Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Ústav akvakultury/výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Diplomová práce

Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček sumce velkého *Silurus glanis*

Autor: Tomáš Borkovec
Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: Ing. Jitka Hamáčková
Místo a rok odevzdání: České Budějovice, 2010

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Katedra rybářství
Akademický rok: **2004/2005**

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tomáš BORKOVEC**
Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček sumce velkého** *Silurus glanis*

Zásady pro vypracování:

Cílem práce je optimalizovat způsob hormonální indukce ovulace jikernaček sumce velkého (Silurus glanis) pomocí hormonálních přípravků na bázi funkčních analogů GnRH spolu se společným podáním (anebo samostatně bez) dopaminergních inhibitorů. Metodický postup spočívá ve zjištění dávkové závislosti při injekční aplikaci vybraných dostupných preparátů ve srovnání s kapří hypofýzou, obsahující účinnou látku gonadotropin (GtH). V další fázi budou vybrané způsoby hormonální stimulace použity při různých teplotách vody, v rámci fyziologického rozpětí. Sledovány a hodnoceny budou: % ovulujících, resp. úspěšně uměle vytřených jikernaček, průměrná hmotnost jedné vytřené jikry, relativní hmotnost vytřených jiker (vzhledem ke hmotnosti jikernačky před výtěrem), absolutní a relativní plodnost, oplozenost jiker, % vylíhnutého plůdku a délka intervalu latence (časový interval od injikace do ovulace), včetně jejich závislosti na způsobech hormonální indukce ovulace a teplotě vody. Pokusy budou prováděny v experimentální hale VÚRH JU ve Vodňanech v rámci řešení výzkumného záměru Biologické aspekty akvakultury a hydrocenóz ve výtěrových sezónách 2005 a 2006.

Rozsah práce:	**30 - 40 stran**
Rozsah příloh:	**10 grafů**
Forma zpracování diplomové práce:	**tištěná**

Seznam odborné literatury:

Brzuska, E., Kouřil, J., Adamek, J., Stupka, Z., Bekh, V. 2004. The application of /D-Tle6, ProNHEt9/mGnRH (Lecirelin) with the dopaminergic inhibitor metoclopramide to stimulate ovulation in African catfish *Clarias gariepinus*. **J.Cz.Anim.Sci., 49 (7):303-312.**

Linhart, O., Billard, R., Kouřil, J., Hamáčková, J. 1997: Artificial insemination and gamete management in European catfish, *Silurus glanis* **L. Pol. Arch.Hydrobiol. (Fish Reproduction 96), 44(1-2):9-23.**

Svobodová, Z., Kolářová, J., Kouřil, J., Hamáčková, J., Vykusová, B., Kaláb, P. 1997: Haematological investigations in *Silurus glanis* **L. females during pre- and postspawning period. Pol. Arch.Hydrobiol. (Fish Reproductin 96), 44(1-2):67-81.**

Vedoucí diplomové práce:	**Ing. Jan Kouřil, Ph.D.** Katedra rybářství
Konzultant diplomové práce:	**Ing. Jitka Hamáčková** Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Datum zadání diplomové práce:	**1. února 2005**
Termín odevzdání diplomové práce:	**30. dubna 2007**

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

L.S.

prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.
děkanka

doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 2. února 2005

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU (viz. opatření rektora R 83). Zveřejnění je elektronickou formou v databázi STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

Datum: 3. 5. 2010

Podpis studenta:

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. a dále Ing. Jitce Hamáčkové (oba VÚRH JU Vodňany), vedoucímu rybí líhně v Mydlovarech Ing. Richardu Vachtovi a jeho spolupracovníkům a vedoucímu rybí líhně Mokřiny Aleši Křížovi a jeho spolupracovníkům za vřelou pomoc a cenné rady při zpracování diplomové práce.

Diplomová práce byla podporována výzkumným záměrem VÚRH JU Vodňany MSM 6007665809 z prostředků MŠMT ČR a výzkumným projektem NAZV QH91310 - Optimalizace metod hormonálně indikovaného umělého výtěru jikernaček hospodářsky významných druhů ryb z prostředků Mze ČR.

OBSAH

1. Úvod:....8
2. Literární přehled:....10
2.1 Biologie sumce velkého....10
2.1.1 Systematika....10
2.1.2 Popis ryby....10
2.1.3 Výskyt a stanoviště....11
2.1.4 Chování....12
2.1.5 Potrava a růst....12
2.1.6 Rozmnožování....13
2.2 Umělý výtěr ryb....14
2.2.1 Hormonální řízení reprodukce ryb....14
2.2.2 Ekologicky a hormonálně indukovaný výtěr....17
2.2.3 Historie hormonálně indukovaného umělého výtěru ryb....20
2.2.4 Přirozený a poloumělý výtěr sumce velkého....23
2.2.5 Umělý výtěr sumce velkého....24
2.3 Anestézie....25
2.3.1 Anestézie a její fáze....25
2.3.2 Charakteristika aplikovaného anestetika hřebíčkový olej....27
3. Metodika a materiál....29
3.1 Materiál....29
3.1.1 Generační ryby....29
3.1.2 Hormonální přípravky....29
3.1.3 Anestetika....31
3.1.4 Odlepkovací roztok....31
3.2 Metodika....31
4. Výsledky....37
4.1 Hormonálně indukovaný umělý výtěr....37
4.2 Oplozenost a líhnivost jiker....44
5. Diskuze....45
6. Závěr....48
7. Seznam použité literatury....49

8. Přílohy.....61
9. Souhrn.....71
10. Summary.....72

1. Úvod

Řízení reprodukce ryb se provádí z několik důvodů, mezi něž patří především: synchronizace termínu rozmnožování, případně jeho časového posunu, vytvoření předpokladu pro možnost umělé inkubace jiker s cílem snížení ztrát v průběhu raného vývoje, možnost výraznějšího využití šlechtitelských metod, včetně nejrůznějších manipulací s gametami, krátkodobé a dlouhodobé uchovávání gamet (s využitím kryogenních technik), případně v dohledné budoucnosti i oplozených embryí, umožňující udržování genových reserv hospodářsky významných druhů i ohrožených a řídce se vyskytujících druhů a populací ryb.

Reprodukce většiny kaprovitých ryb i řady jiných druhů ryb využívaných v akvakultuře je prováděna obvykle pomocí hormonálně indukovaného výtěru. K indukci ovulace jikernaček kapra a dalších kaprovitých i řady jiných druhů ryb se již několik desetiletí obvykle používá metoda tzv. hypofyzace. Ta je založena na injekčním podání gonadotropinu obsaženého v rybí, nejčastěji kapří hypofýze.

U některých druhů ryb (např. kapr) je podání GnRHa k indukci ovulace v důsledku antagonistického účinku dopaminu k indukci ovulace neúčinné. Byla ale úspěšně odzkoušena současná aplikace GnRHa a některého z dopaminergních inhibitorů (Kouřil a Hamáčková, 1996a). U sumce bylo ověřováno použití analogu GnRH bez a spolu s podáním dopaminergního inhibitoru isofloxythepin, bez zjištění rozdílu v počtu vytřených a při nesignifikantních rozdílech v dosažené plodnosti (Kouřil a kol., 1996c).

V současnosti se úsilí výzkumu v řízené reprodukci ryb zaměřuje na nalezení univerzálních přípravků vhodných pro co nejširší druhové spektrum ryb k indukci ovulace (a spermiace), obsahující oba výše uvedené účinné komponenty (Haffray a kol., 2005). Současně je žádoucí, aby používané preparáty nezpůsobovaly pokud možno žádné vedlejší účinky - vysokou povýtěrovou mortalitu generačních ryb a umožňovaly opakovatelnost umělého výtěru v následujících reprodukčních sezónách.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit optimální způsob hormonální indukce ovulace jikernaček sumce velkého s pomocí hormonálního kombinovaného

přípravku, obsahující GnRHa společně s dopaminergním inhibitorem, Dagin (izraelský preparát). Určit závislost průběhu intervalu latence na teplotě vody a ověřit jeho účinnost k indukci ovulace.

Při práci bylo použito anestetikum (hřebíčkový olej) s cílem omezení manipulačního stresu u ryb a usnadnění práce s rybami při vážení, injikaci hormonálních přípravků, kontrole dosažení ovulace a vlastním umělém výtěru jikernaček sumce velkého.

2. Literární přehled

2.1 Biologie sumce velkého

2.1.1 Systematika

Sumec velký (*Silurus glanis*) je v zoologickém systému začleněn následovně (Baruš a kol., 1995):

Třída: Ryby (*Osteichthyes*)

Nadřád: Kostnatí (*Teleostei*)

Řád: Máloostní (*Cypriniformes*)

Podřád: Sumcovci (*Siluroidei*)

Čeleď: Sumcovití (*Siluridae*)

Rod: Sumec (*Silurus* Linnaeus, 1758)

Druh: Sumec velký (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758)

2.1.2 Popis ryby

Sumec velký má protáhlé tělo, které se zužuje od široké hlavy směrem k ocasu. Ocasní část těla za rozšířeným břichem je ze stran zploštělá. Kůže je bez šupin, lysá a hladká. Hlava je svrchu zploštělá. Ústa jsou široká, s masitými rty a jemně ozubenými předčelistními kostmi. Velmi malé oči jsou umístěny blíže svrchní části prodloužené předčelisti a posunuty spíše k vrchní části hlavy. Celková délka těla obvykle dosahuje 100–150 cm , hmotnost 10-30 kg (Baruš a Oliva 1995).

Zbarvení je nenápadné, málo kontrastní. Základ tvoří tmavě modrošedá či šedoolivově zelená barva, hřbet je modročerný, jednotlivě tmavý, někdy i nahnědlý, boky světlejší, špinavě nažloutlé, s mramorovanou kresbou více či méně výraznou, břicho žlutobílé, často i s šedými skvrnami a jemným tmavým síťováním či tečkami. Dva nejdelší vousy na horní čelisti jsou na vrchní straně tmavé, na spodní pak světlé,

stejně jako vousy na spodní čelisti a bradě, které jsou světlé až narůžovělé (Mihálik 1968, Horoszewicz 1971).

Ploutevní vzorec je podle Banaresca (1964), Vladykova (1931) a Olivy (1968): D 3-5; A 77-92; PI, 14-17; V 11-13.

Pohlavní dimorfismus je v proporčních znacích u sumce velkého nevýrazný. Mihálik (1968), Horoszewicz (1971), Sedlár a Žitňan (1977) uvádějí, že samci mají hranatější a širší hlavu než samice. Řitní otvor je u samců ve tvaru úzké podélné štěrbiny, u samic okrouhlý. Močopohlavní bradavka samců je špičatá a často pigmentovaná, u samic je spíše zaoblena a většinou nepigmentovaná. Těsně před výtěrem má samice, je-li držena ve svislé poloze, vypouklejší břicho než samci. Dále se traduje, že samci mívají tmavěji zbarvené břicho a ozubený tvrdý první paprsek prsních ploutví. Kouřil a kol. (1981b) při umělém výtěru zjistili, že většina uváděných rozlišovacích znaků pro určení pohlaví u sumce velkého je značně nespolehlivá. Pouze rozdíly ve tvaru a zbarvení urogenitální papily, která je u samic širší, vypouklá s větším pohlavním otvorem a u samců užší, plochá s menším pohlavním otvorem, umožňují při určité chovatelské praxi poměrně bezpečně rozlišit pohlaví.

2.1.3 Výskyt a stanoviště

Původní areál výskytu sumce velkého zahrnuje větší část Evropy od řeky Rýn směrem na východ v řekách a vodách patřících do pomoří Baltského, Černého, Kaspického moře a Aralského jezera. V povodí Rýna se vyskytuje pouze v jeho horní části, jak zaznamenal na základě dokladů již Siebold (1863). Součástí areálu rozšíření sumce jsou i řeky vtékající do Černého a Kaspického moře a Aralského jezera z jihu. Chybí v Anglii, ve Francii (s výjimkou povodí řeky Doubs), na Pyrenejském poloostrově, v Itálii a v západní části Balkánského poloostrova (Berg, 1948-1949). Mimo tento areál se může vyskytovat v důsledku dovozu a vysazení, např. v Anglii (Maitland 1972).

Sumec velký vyžaduje vodní prostředí s členitým dnem a břehy s dostatkem úkrytů. Stanoviště, kde odpočívá zalehlý v klidu, tvoří úkryty – zatopené křoviny,

stromy, kameny, kořeny, vývraty a výmoly ve dně. Větší jedinci vyhledávají hlubší vodu. S výjimkou zimy a období tření je sumec většinou svému stanovišti věrný. Tyto skutečnosti potvrzuje též Sabanejev (1892)

2.1.4 Chování

Oproti dřívějším názorům o samotářství sumce velkého (např. Dyk 1956) považují Sedlár a Žitňan (1977) sumce za rybu společenskou, nebránící své teritorium. I největší jedinci s výjimkou tření se snášejí s dalšími, pokud není velikostní rozdíl příliš velký, neboť u tohoto druhu je běžný kanibalismus. V malých sádkách, či žlabech v období před třením, nebo po hormonální stimulaci dochází často k vzájemnému napadání i poškození. Proto je vhodné jedince individuálně separovat (Kouřil, ústní sdělení). Sumec je aktivní především v noci, kdy sbírá a loví potravu. Je to výrazně teplomilná ryba, a proto její pohyby a chování jsou výrazně ovlivňovány teplotou vody. S poklesem teploty vody se aktivita snižuje a nejchladnější roční období přečkává v zimním klidu většinou v nejhlubších místech, jak prokázala prováděná pozorování pod ledem (Lelek a kol. 1964). Nejvyšší aktivitu vykazuje sumec velký v období před třením, tj. koncem dubna a v květnu a v nejteplejších měsících. Šimek (1959) upozorňuje na poměrnou mrštnost sumce při lovu potravy a pro něj typické údery o hladinu, loví-li při povrchu.

2.1.5 Potrava a růst

Převážnou většinu potravy sumce velkého, s výjimkou nejmenších jedinců, tvoří ryby a případně i další obratlovci. V přirozeném prostředí jsou první potravou plůdku buchanky, drobné perloočky, nejmenší vývojová stádia pakomárů, jepic, pošvatky, chrostíci aj. (Vasiliu a Popescu 1943, Hochman 1966a, 1969). Pokusy s odkrmem plůdků do stáří 14 dnů potvrdily, že nejvhodnější počáteční potravou je zooplankton, v dalším období se jako vhodná potrava uplatnily nitěnky (Kouřil a kol. 1984). Z náhradních krmiv při odchovu přijímal sumčí plůdek upravenou slezinu,

játra, maso a speciální granule (Hochman 1969).

V podstatě o potravě sumce velkého platí, že její hlavní část tvoří ty druhy ryb, které jsou v okolí jeho stanoviště nejpočetnější a velikostně nejvhodnější. Množství pozřené potravy může převyšovat i 10 % jeho celkové hmotnosti a ojediněle i 15 %, jak uvádí Sedlár a Žitňan (1977).

Velmi dobrý růst vykazuje sumec v rybničních podmínkách. V pohořelických rybnících na jižní Moravě dorůstal sumec v prvním roce 13 - 28 cm a 20 - 200 g, ve druhém roce 380 - 600 mm a 350 - 1 340g, ve třetím roce 430 - 735 mm a 570 - 3 500g, ve čtvrtém roce 750 mm a 3,0 kg, v pátém roce 890 mm a 4 - 5 kg. Obdobné tempo růstu sumce bylo zjištěno i v rybnících na Třeboňsku (Hochman 1966b).

V současnosti jsou všechny věkové kategorie sumce chovány i ve speciálních zařízeních (průtočné a recirkulační systémy s oteplenou vodou) a krmeny kompletní krmnou směsí. Růst závisí na použité technologii chovu (teplotě vody, intenzitě krmení atd.) (Mareš, 2007).

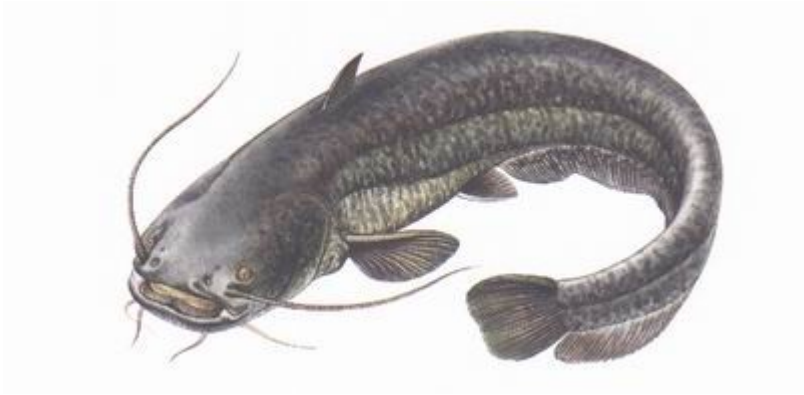
2.1.6 Rozmnožování

Pohlavní dospělost podle Dyka (1956) nastává u samců ve třech letech a u samic ve třech až čtyřech letech. K výtěru sumců v našich podmínkách dochází v době, kdy teplota vody dosahuje 19 - 22 °C (Hochman 1970, Hochman a Krčál 1957), což bývá obvykle koncem května a nebo v průběhu června. Podle uvedených autorů probíhá výtěr sumce v pozdních večerních a nočních hodinách, kdy se po vzestupu teplota vody ustálí okolo 20 °C. Jako podklad pro ukládání jiker slouží kořínky a kořenový systém stromů, keřů, kořenové vlášení vodních rostlin; tyto materiály se používají i pro zhotovování umělých hnízd při poloumělém výtěru sumců (popis viz Mihálik 1957, 1968).

Plodnost samců u nás studoval Linhart (1984), který zjistil ve směsi spermatu a moči v průměru $2{,}71.10^6$ spermií v jednom mm^3. Pohyblivost spermií trvala až 150 s. Při umělém výtěru 16 samic o průměrné hmotnosti 4,7 kg činila tzv. pracovní relativní plodnost (skutečně vytřené jikry) 11800 $ks.kg^{-1}$ hmotnosti samice. Hmotnost

jedné jikry dosahovala v průměru 6,2 mg (Kouřil a kol. 1981b). Po oplození a nabobtnání dosahuje velikost jiker v průměru 3 mm (až 3,5 mm), když těsně před vytřením mají v průměru okolo 2 mm. Vývoj oplozených jiker trvá 50-70 denních stupňů; Hochman a Krčál (1957) zjistili, že délka vývoje oplozených jiker při teplotě 17 - 22 °C je tři dny (52 dº). Kouřil a kol. (1981b) uvádějí pro vývoj jiker období 2 - 3,5 dne při teplotě vody 19 - 25 °C. Vylíhlý plůdek sumce je 6 - 7 mm velký, má výrazný žloutkový váček a je světloplachý (Horoszewicz 1971, Putschögl 1983).

Obr. 1. Sumec velký (Anonymus, 2009a)



2.2 Umělý výtěr ryb

2.2.1 Hormonální řízení reprodukce ryb

K řízenému rozmnožování hospodářsky významných, sportovně využívaných, okrasných, akvarijních a v neposlední řadě také ohrožených druhů ryb se v současné době běžně využívá metod poloumělého a umělého výtěru s využitím hormonální indukce ovulace a spermiace ryb.

Gonády (pohlavní orgány) jsou bifunkční orgány, které mají za úkol produkci

zárodečných buněk a pohlavních hormonů. Mezi oběmi funkcemi je velmi úzký vztah, neboť pro tvorbu a vývoj zárodečných buněk je potřeba relativně velká koncentrace pohlavních hormonů. Ovária (vaječníky) produkují ovocyty a pohlavní hormony estrogeny a progesteron, testes (varlata) produkují spermatozoa a testosteron (Murray a kol., 1998).

Na hormonální řízení reprodukce ryb mají nezanedbatelný vliv různé vnitřní či vnější faktory. Do vnitřních faktorů zařazujeme zejména zdravotní a kondiční stav generačních ryb, ovlivněný například kvalitou krmiva, hygienou a technologickým způsobem chovu. Mezi vnější faktory (vlivy prostředí) se musí především zařadit světelné a teplotní podmínky. Na kaprovité ryby má spíše vliv teplota prostředí, naopak na ryby lososovité světelný režim. U obou případů se jedná nejen o aktuální stav, ale hlavně o změny v podmínkách (zvyšování nebo snižování teploty vody, respektive prodlužování nebo zkracování světelného dne). Dalšími významnými vnějšími faktory jsou: obsah ve vodě rozpuštěného kyslíku, solí, množství metabolických produktů (například amoniak, dusitany atd.), pH, výška vodního sloupce, proudění vody, pro některé druhy obsah huminových látek vyplavovaných při záplavách, dále přítomnost výtěrového substrátu (důležitý pro fytofilní druhy ryb, jako je většina kaprovitých, štika a jiné) a další. Také přítomnost ryb stejného druhu opačného pohlaví či výtěrového hejna působí velmi stimulativně. Tyto informace jsou přijímány a analyzovány centrální nervovou soustavou (CNS) ryb. Zmíněné souvislosti jsou podrobněji rozebrány ve studiích (van der Kraak, 1983; Matty, 1985; Pankhurst, 1998). Přirozené endokrinní řízení reprodukce probíhá v rámci osy hypothalamus – hypofýza – gonády a je přehledně popsáno řadou autorů (van der Kraak, 1983; Matty, 1985; Pankhurst, 1998; Yaron, 1995). Vztahy produkovaných gonadotropních hormonů (GtH) jsou regulovány inhibičně působícím dopaminem (DA) a stimulovány účinkem spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRH). GtH je syntetizován v hypofýze – podvěsku mozkovém. Jiná situace se vyskytuje u druhů ryb, u nichž se DA neprojevuje inhibičním účinkem na sekreci gonadotropinu (GtH). Modulační efekt zde má serotonin. Tento způsob neuroendokrinního řízení spouštění GtH je prokázán pouze u relativně malého počtu druhů kostnatých ryb (Khan a Thomas, 1992). Existují dva rozdílné gonadotropní hormony (GtH), jedná se o GtH-I

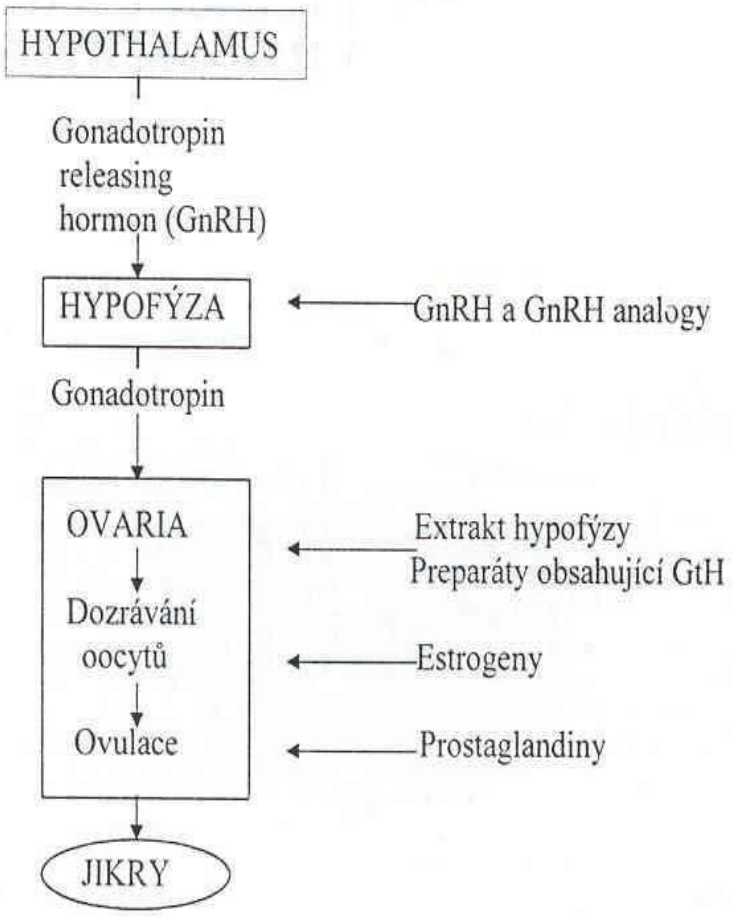
a GtH-II, oba jsou produkované hypofýzou, účinkují při stimulaci syntézy DNA v gonádách a při biosyntéze steroidů. Přítomnost GtH-I je spojena s raným vývojovým stádiem a GtH-II se uplatňuje v průběhu dozrávání (Swanson, 1991). V průběhu gametogeneze a vitellogeneze odpovídají vaječníky na stimulaci gonadotropiny (GtH) produkcí 17β-estradiolu (E2) a testosteronu (T). Estradiol (E2) stimulující jaterní syntézu vitelogeninu je aktivně transportován do zvětšujících se ovocytů s pomocí gonadotropinu (GtH) (Specker a Sullivan, 1994). Testosteron není v řídící roli, ale jeho úroveň v plazmě odráží vyváženost mezi syntetizovaným testosteronem a množstvím, které je přeměňováno na 17β-estradiol. Na začátku závěrečného dozráni ovocytů (FOM) dochází k prvnímu snížení hladiny 17β-estradiolu (E2), pak je produkován testosteron (T) a dochází k dozrání indukujícího steroidu (MIS) 17α,20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one (17α,20βP) nebo 17α,20β, 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (20βS), oba působí na závěrečné dozrání ovocytů (Thomas, 1994). U většiny testovaných druhů ryb se objevují prostaglandiny (PGS) produkované ve folikulech jako odpověď na gonadotropin (GtH-II) (Goetz a kol, 1991).

Činnost vaječníků a jater je rovněž ovlivňována steroidními hormony. U ovariálních steroidů se také projevuje účinek zpětné vazby na mozek a hypofýzu. Ukazuje se, že testosteron a estrogeny mohou stimulovat syntézu GtH v hypofýze u řady druhů (Kobayashi a kol., 1989; Linard a kol., 1995). To je idea hlavního účinku hypofýzy pomocí pulzu před ovulačního GtH-II, který následně stimuluje syntézu steroidů indukujících dozrávání (MIS) (Trudeau a kol., 1991). Testosteron a E2 také mají negativní zpětnou vazbu pomocí účinku při vyvolání zvratu pomocí DA (odtud inhibiční charakter) v průběhu raného vývoje při dozrávání. Také toto je důkazem steroidního ovlivňování biosyntetické aktivity neuronů produkujících spouštěcí hormony gonadotropinu (GnRH), kvůli možnému účinku dalších neurohormonů.

Mlíčáci na rozdíl od jikernaček mají nízkou aktivitu aromatázy, nebo se vůbec nevyskytuje. Hlavními steroidními produkty v průběhu gametogeneze jsou testosteron a jeho derivát 11-keto-testosteron (11KT). Testosteron principiálně odpovídá za regulaci gametogeneze, poněvadž 11KT stimuluje vývoj druhotných pohlavních znaků (Pankhurst a Carragher, 1991) a obojí mají za následek modulování různých projevů reprodukčního chování (Pankhurst, 1995).

Hormonální indukce výtěru u ryb je vlastně iniciace těchto procesů pomocí exogenních hormonů (Tyler a kol., 1990).

Obr. 2: Zjednodušené schéma hormonálního řízení ovulace u ryb (Kouřil a kol., 1999).



2.2.2 Ekologicky a hormonálně indukovaný výtěr

Ekologicky indukovaným výtěrem ryb se rozumí zejména použití neinvazních metod. Jde o úpravu teplotního a světelného režimu prostředí, ve kterém jsou ryby v období před výtěrem drženy tak, že příznivě působí na závěrečné dozrání, ovulaci a indukuje případně i vlastní výtěr. Hormonálně indukovaným výtěrem se rozumí podání exogenních hormonů (zpravidla použití invazních metod - injekční podání), které vyvolá závěrečné dozrání, ovulaci a případně výtěr ryb.

Na základě výše uvedené kapitoly je patrné, že hormonální indukce ovulace

jikernaček (a obdobně indukce spermiace u mlíčáků), je možná několika způsoby. Jedna z nich je založena na použití spouštěcích hormonů gonadotropinu (GnRH) či spíše jejich funkčních analogů s výrazně nižšími prahovými dávkami než přirozené GnRH (ať již savčí, kuřecí či rybí) (Cooperative Team, 1975; The polypeptide group, 1976; Donaldson a kol., 1981; Barth a Kouřil, 1986; Lin Hao Ren a kol., 1986).

Dobré výsledky v reprodukční manipulaci dává použití spouštěcího hormonu gonadotropinu různým způsobem v protrahované formě (pomalu se uvolňující účinná látka obsažená v peletách, zavedených jednoduchým způsobem pod kůži či do svaloviny). Toto jsou používané způsoby k vyvolání ovulace u ryb, které dokončily vitellogenezi, ale nedokáží podstoupit závěrečné dozrání oocytů (FOM) a hydrataci spermatu u mlíčáků (Pankhurst, 1994).

Při podání samotných syntetických hormonálních přípravků, analogů GnRH, v některých případech může docházet k selhání řízené reprodukce. Účinek GnRH může být zlepšen metodou podání spolu s dopaminergními inhibitory k zablokování jejich tonického účinku. U druhů, u nichž způsob indukce ovulace pomocí analogů GnRH není účinný (např. u kapra), přichází v úvahu současné použití analogu GnRH a některého z dopaminergních inhibitorů - reserpin, domperidon, haloperidon, pimozid, metaclopromid, sulpirid, isofloxythepin (Lin Hao Ren, 1986; Woynarovich, 1992; Mikodina a kol., 1997; Barthová a kol., 2000).

Klasické je ošetřování ryb rybími gonadotropiny (obvykle původem z kapra – ve střední Evropě a jihovýchodní Asii, nebo cejna velkého – v Rusku, Litvě a Polsku, resp. od tichooceánských lososů – v Severní Americe). V podmínkách střední Evropy, ale i řady dalších oblastí s rozvinutou akvakulturou, je doposud jednoznačně nejpoužívanějším postupem při hormonální indukci reprodukce ryb tzv. hypofyzace (s použitím různě upravené kapří hypofýzy). Rozvíjeny byly metody použití purifikované kapří hypofýzy (Hulová a kol., 1994), včetně kalibrace obsahu GtH (Yaron, 1995). V někerých případech (zejména v jihovýchodní Asii, ale i v Polsku), byl k indukci výtěru ověřen a v praxi je částečně používán i humánní choriogonadotropin (hCG), získávaný extrakcí z moče těhotných žen (Richter a kol., 1987; Pankhurst, 1994).

Podle Yarona (1995) srovnání mezi metodami hypofyzace a podáním analogu

GnRH spolu s dopaminergním inhibitorem na příkladu umělé reprodukce kapra v Izraeli i jinde ukázalo na jedné straně sice vhodnost a spolehlivost použití osvědčené kapří hypofýzy. To jen za předpokladu, že GtH obsažený v extraktu z kapří hypofýzy je kalibrovaný. Naopak metoda s využitím analogů GnRH a dopaminergních inhibitorů se jeví výhodná vzhledem ke své relativně nízké ceně a dostupnosti. Navíc je nutno brát v úvahu i určité potenciální riziko možnosti šíření případných patogenů spolu s hypofyzárním materiálem (Yaron, 1995; Haffray a kol., 2005).

V současnosti se nabízí možnost použití kombinovaného podání analogů GnRH a dopaminergních inhibitorů již v jedné lékové formě (např. izraelský přípravek Dagin, či maďarský přípravek Ovopel aj.). Po roce 2000 nalezl přípravek Ovopel uplatnění i v České republice, konkrétně na jihočeských rybích líhních v Mydovarech a Mokřinách (Vachta a Kříž, osobní sdělení).

Společné ošetření spouštěcím hormonem gonadotropinu (GnRH) nebo gonadotropinem (GtH) a steroidy (nebo substráty pro steroidní biosyntézu) může také být efektivní pro stimulaci dozrávání gonád, které je však využíváno jen velmi omezeně (Pankhurst, 1987). Možnost použití ke stimulování výtěrového chování u jikernaček některých druhů ryb je i s prostaglandinem PGF2α (Kobayashi a Stacey, 1993). Je zde šance budoucího uplatnění použití PG rozpuštěného přímo ve vodním prostředí (Stacey a Cardwel, 1995).

Přehled způsobů injikace kapří hypofýzy (a analogicky i jiných preparátů využívaných k indukci výtěru u ryb), jsou předmětem studie Kouřila a kol. (1990). Hormonální indukce ovulace formou injekční aplikace různých hormonálních přípravků je v současnosti běžný způsob používaný při poloumělém a umělém výtěru ryb.

Vzhledem k celé řadě vnějších a vnitřních faktorů se vyskytují, při praktickém využití současných poznatků při řízené reprodukci ryb, časté neúspěchy. Možnosti jejich příčin a eliminace nepříznivých efektů se pokusil klasifikovat Pankhurst (1998) (viz tabulka 1).

Tab. 1. Přehled možných případů a řešení problémů reprodukce ryb (podle Pankhursta, 1998).

Problém	Příčina	Způsob řešení	
Gamety se nezvětšují	stres	chovatelský zásah	snížení stresové zátěže
			zvýšení objemu chovného prostoru
		výživa	uspokojení nutričních požadavků
		hormonální zásah	aplikace pelet obsahující GnRH s protrahovaným účinkem
Nedochází k závěrečném u dozrání oocytů	fyzikální	úprava kvality prostředí	
	sociální	řízené nasazování generačních ryb	v období závěrečného dozrávání oocytů
		hormonální terapie	injekční aplikace prostaglandinů
Nedochází k výtěru	fyzikální	úprava kvality prostředí	
	sociální	řízené nasazování	pro závěrečné dozrávání oocytů
		hormonálnízásah	injikace prostaglandinů
Nevhodnost výtěrového období	fyzikální	řízení kvality prostředí	fototermální manipulace při fázování cyklů

2.2.3 Historie hormonálně indukovaného umělého výtěru ryb

Výzkum v oblasti hormonálního řízení u ryb je poměrně rozvinut a má řadu důvodů. Například se jedná o srovnávací a vývojovou endokrinologii, která má nemalý význam ve fylogenezi, dále pak ve využívání rybích hormonů v humánní terapii a aplikaci v akvakultuře. Schopnost přirozených hormonů ryb vyvolávat ovulaci a spermiaci byla již známa před zhruba sedmdesáti lety. Této znalosti se také přes pět desítek let úspěšně využívá v chovatelské praxi.

Již v letech 1930 - 1934 byly v Jižní Americe realizovány první pokusy s hormonální indukcí umělého výtěru živorodých halančíků za použití rybí hypofýzy obsahující účinnou látku gonadotropin (von Ihering, 1937). Hasler (1939) popisuje hormonální indukci ovulace dosaženou u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykkis*). Gerbilskij (1941) se zmiňuje o výtěru jesetera hvězdnatého (*Acipenser stellatus*)

dosaženého v Rusku aplikací dvou dílčích dávek hypofýzy. Počátkem padesátých let nastal v Číně významný rozvoj metody využívající hypofyzární injekce. Poprvé byla metoda použita u amura černého (*Mylopharingodon piceus*) a tolstolobce pestrého (*Aristichthys nobilis*). Později následovaly i další druhy ryb, jako amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmychtys molitri*x) a kaprovité ryby (*Labeo rohita*, *Catla catla* a *Cirrhinus mrigala*) (Matty, 1985; Yaron, 1995). Na evropském kontinentu se především zásluhou ruských a maďarských výzkumníků zavedla metoda hormonálně indukovaného umělého a poloumělého výtěru ryb, nejprve u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a později také u dalších rybích druhů (Tamás a Horváth, 1985; Horváth a kol., 1984, 1992). Jalabert a kol. (1977), Kouřil a kol. (1985) a Hulová a kol. (1994) píší o izolaci a charakterizaci rybích i savčích gonadotropinů a možnostmi jejich využívání při indukovaném umělém výtěru ryb. Významnou etapou na přelomu šedesátých a sedmdesátých let byl objev spouštěcích faktorů (hormonů) gonadotropních hormonů. Tyto látky ať už v přírodní či později v syntetické podobě byly v sedmdesátých a osmdesátých letech poměrně rychle odzkoušeny a využívány v chovatelské praxi. Největší podíl na tomto měli vědci z Číny (Cooperative Team, 1975; The polypeptide group, 1976), kteří tyto látky využívali především k reprodukci kaprovitých druhů ryb.

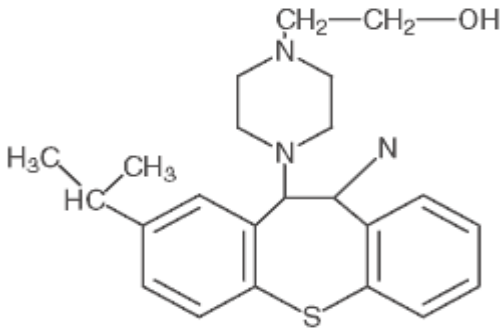
Tab. 2. Sekvence aminokyselin v přirozených spouštěcích hormonech gonadotropních hormonů (GnRH) u různých skupin obratlovců (Woynarovich, 1992).

GnRH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Analyzováno
Savčí	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly NH_2	Schally a Guiellermin, 1971
Kuřecí I.	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Gln	Pro	Gly NH_2	King a Miller, 1982
Kuřecí II.	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Tyr	Pro	Gly NH_2	Miyamoto a kol., 1984
Lososí	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Trp	Leu	Pro	Gly NH_2	Sherwood a kol., 1983
Mihulo-Vitých	pGlu	His	Trp	Ser	Leu	Glu	Trp	Lys	Pro	Gly NH_2	Sherwood a kol., 1983

U nás první impuls k využívání spouštěcích faktorů gonadotropních hormonů při indukci výtěru ryb dali Barth a Kouřil (1981), současně přiblížili dosavadní první kladné výsledky čínských autorů a dále zdůraznili možnosti budoucího širokého využití těchto hormonů při umělé reprodukci ryb. To se potvrdilo úspěšnou aplikací u lína obecného (*Tinca tinca*) (Kouřil a Barth 1981a) a následně i u amura bílého (Kouřil a kol.,1982). Donaldson a kol. (1981) a van der Kraak (1983) se ve svých výzkumech zaměřili na užití spouštěcích hormonů při indukci ovulace a synchronizaci výtěru lososů. V osmdesátých letech byly provedeny první úspěšné pokusy u některých kaprovitých i jiných druhů ryb s náhradou kapří hypofýzy savčím spouštěcím hormonem gonadotropinem (mGnRH) (například u lína (Kouřil a kol.,1986)). Na rozdíl od lína nebylo při jednorázové aplikaci samotných superaktivních analogů GnRH jikernačkám kapra dosaženo dobrých výsledků (Kouřil a kol., 1982). Příčinou je inhibiční účinek dopaminu ovlivňující produkci gonadotropních hormonů (GtH) v adenohypofýze (Pankhurst, 1998). To způsobuje u některých druhů ryb (včetně kapra) po podání GnRH nebo jejich analogů nedostatečnou nebo žádnou hormonální odezvu. Eliminace tohoto jevu je právě možná současným injekčním podáním některého z dopaminergních inhibitorů spolu se superaktivním analogem GnRH. U kapra bylo jako dopaminergní inhibitor s pozitivními účinky ověřeno české neuroleptikum Isofloxythepin (Barth a kol., 2000). V devadesátých letech se na trhu objevily některé kombinované přípravky nazvané Ovaprim (Kanada), Aquaspawn (Jihoafrická republika), Ovopel (Maďarsko) a Dagin (Izrael). Tyto výše uvedené preparáty vždy obsahují některý ze superaktivních analogů GnRH současně s některým z dopaminergních inhibitorů (Horváth a kol., 1997; Barth a kol., 2000). Vliv přípravku Dagin na vyvolání ovulace u kapra a dobu intervalu latence zkoumal Yaron a kol., 2002. Kouřil a kol. (2006b) použili přípravek Dagin pro hormonální stimulaci výtěru u amura bílého a zjistili statisticky průkaznou závislost délky intervalu latence na teplotě vody. V Rusku byl vyvinut přípravek Nerestin (dodávaný v několika variantách, lišících se použitými druhy a dávkami GnRHa a dopaminergními inhibitory, které však nejsou v příbalovém letáku uvedeny). Jednotlivé varianty přípravku, označované jako Nerestin 1 až Nerestin 7, jsou určeny pro různé druhy, respektive skupiny druhů ryb. Komerčně vyráběný

přípravek Nerestin je využíván v Rusku, na Ukrajině, v Moldávii a v Rumunsku (Motloch, 2006; Anonymus, 2007a). Pozitivní výsledky při umělém výtěru kapra byly publikovány zejména při použití přípravku Ovopel (Horváth a kol., 1997). V Maďarsku, Polsku a ČR je v posledních několika letech v provozní líhňařské praxi při umělém výtěru kaprovitých, ale i dalších druhů ryb postupně zaváděn přípravek Ovopel. V současné době podle dostupných informací obdržel přípravek Ovopel atest pro aplikaci v Německu (Kouřil, osobní sdělení). V nedávné době se objevily informace o přípravku GonazonTM, použitém týmem francouzských, holandských a polských vědců k indukci a synchronizaci ovulace u lososa obecného, pstruha duhového a sivena alpského (Haffray a kol., 2005). Podle dostupných informací je GonazonTM prozatím jediným preparátem, jenž obdržel atest pro aplikaci v zemích EU. Bohužel tento přípravek není momentálně na trhu dostupný (Kouřil, osobní sdělení).

Obr. 3. Strukturní vzorec Isofloxythepinu (Anonymus, 2003).



Isofloxythepin

2.2.4 Přirozený a poloumělý výtěr sumce velkého

Jikernačky sumce z volných vod dospívají ve věku 5 let, chované v rybnících ve věku 4 let (Hochman 1966, 1967, 1970). Nejmenší zjištěná hmotnost adultní jikernačky z rybničního chovu nalezli Kouřil a kol. (1981b) o hmotnosti 2,0 kg.

V našich podmínkách dochází k výtěru sumců při teplotě 19 – 22 °C koncem

května a v červnu (Hochman, 1970; Hochman a Krčál, 1957). Hochman (1970) prokazatelně zjistil, že výtěr u sumce stimuluje pokles tlaku vzduchu. Hochman (1967) zjistil, že absolutní plodnost jikernaček o délce 82 – 156 cm původem z údolní nádrže Orlík se pohybovala v rozpětí 42.822 – 391.411 jiker. Relativní plodnost se pohybovala v rozpětí 7.390 – 24.433 $ks.kg^{-1}$. Hochman (1970) zjišťoval pohlavně aktivní (přirozeně vytřené) jikernačky až do délky 180 cm a hmotnosti 45 kg. U takovýchto jedinců vyvozoval horní hranici absolutní plodnosti 500 – 700 tis. jiker.

S chovem sumce spojeným s řízeným rozmnožováním bylo započato u nás až po roce 1950. I když se sumec i v dřívějších letech vyskytoval v rybnících, bylo to spíše náhodou či jako pozoruhodnost (Šusta 1884, Bubeníček 1898). Řízené rozmnožování sumce bylo prováděno tzv. poloumělým způsobem, kdy se mateční ryby vytřou na připravené podložky – hnízda, vytřené jikry jsou odebrány a dolíhnuty v průtočných korytech v líhni.

2.2.5 Umělý výtěr sumce velkého

První úspěšný umělý výtěr sumce velkého s pomocí hypofyzace byl realizován v bývalé Jugoslávii (Fijan 1975; 1976), následně pak v Maďarsku (Horváth a Tamás 1976) a České republice (1978).

V posledním období byl umělý výtěr sumce velkého včetně spermatogeneze, ovogeneze a reprodukčních ukazatelů popsán Legendrem a kol. (1996), popis umělého výtěru jikernaček podal Kouřil a kol. (1996c), výtěru mlíčáků Linhart a Billard (1995), umělého osemenění Linhart (1997a), Linhart a kol. (1997b), kvality spermií Saad a Billard (1995), Billard a kol. (1997), Cosson a kol. (1997), kvality jiker Linhart a Billard (1995a) a proces průniku spermie do jikry popsal Kudo a kol. (1994). Popis umělého výtěru s použitím analogu GnRH „Kobarelin“, LHRH analogu s pimozidem nebo Ovopelem popsal Kouřil a kol. (1987, 1996c), Brzuska a Adamek (1999) a Brzuska (2001). Použitím několikanásobné hypofyzace u mlíčáků dojde k lepší stimulaci spermiace (Linhart a Billard 1995a) a optimalizaci inseminace a aktivace jiker včetně nového imobilizačního a aktivačního roztoku (Linhart, 1997a;

Linhart a kol., 1997b). Další skutečností vedoucí k lepšímu výtěru je množství krmných ryb při přípravě generačních ryb (Kouřil a kol., 1996b), používání enzymu k odlepkování jiker po jejich aktivaci podle Proteau a kol. (1994), Linharta (1997a) a Linharta a kol. (1997b), uplatnění individuálního značení mikročipovými značkami (Flajšhans a Daněk, 1994), prokázání rychlejšího růstu mlíčáků oproti jikernačkám již v preadultním období (Haffray a kol., 1998), uplatnění triploidizace s testem růstu diploidního a triploidního plůdku (Linhart a Flajšhans, 1995b) nebo zmrazování spermií (Linhart a kol., 1993) s vytvořením banky spermatu (Flajšhans a kol., 1999).

Na základě posledních výsledků se jeví jako nejefektivnější pro vyvolání výtěru použití kombinovaných přípravků obsahujících funkční analogy GnRH a dopaminergní inhibitor (Brzuska 2001; 2003).

2.3 Anestézie

2.3.1 Anestézie a její fáze

Anestetika jsou látky s chemickofyzikálními účinky na organismus. V počátku působení vyvolávají uklidňující efekt, později ztrátu rovnováhy, pohyblivosti, vědomí a reflexů u organismu vystavenému vyšším koncentracím anestetik nebo vystavením těmto látkám po delší časový interval (Summerfelt a Smith, 1990). Anestetika se běžně využívají pro manipulaci s rybami při umělém výtěru, šlechtitelské práci, veterinárních zákrocích a jiných úkonech. Významným důvodem je také usnadnění manipulace s velkými či mrštnými druhy ryb (Trzebiatowski a kol., 1996). Aplikací anestetik se zároveň docílí redukce stresu, který na ryby v nadměrné míře působí při manipulaci (Kazuń a kol., 1999). Trzebiatowski a kol. (1996) uvádí jako výsledek anestézie dočasné snížení prahu bolesti, dočasnou ztrátu reflexů, zmenšení svalového napětí a z toho plynoucí snadnější manipulaci s rybami. Svoboda a Kolářová (1999) zmiňují, že anestézie není pouze součástí prevence mechanického poškození, ale je především součástí předcházení manipulačnímu stresu. V první fázi odpovědi organismu na působení manipulačního stresu se objevují endokrinní změny, ty se následně uplatňují při řízení organismu a vyvolávají změny metabolických

procesů, jejichž intenzita se odráží především ve změnách hodnot hematologických ukazatelů a acidobazické rovnováhy, osmotických a dalších změn, které vedou ke snížení nespecifické odolnosti a následně ke zhoršení zdravotního stavu ryb (Brožová a Svobodová, 1986). Při hormonální stimulaci reprodukce nebo při aplikaci léčiv za pomoci sondy či injekce je velké riziko mechanického poškození, manipulačního stresu a následného zhoršení zdravotního stavu ryb, pokud není použito anestézie (Svoboda a Kolářová, 1999).

Ross a Ross (1999) udávají jako nejpoužívanější techniku aplikace anestetika krátkodobou expozici ryb ve vodném roztoku anestetika. Ten je vdechován rybami, rychle proniká přes žábry do okysličeného krevního řečiště a dává impuls centrální nervové soustavě (CNS). Po navrácení do čisté vody jsou anestetika nebo jejich metabolity rychle vyměšovány z těla ryb přes žábry, v malé míře kůží a některé látky i ledvinami do okolního prostředí. Hlavními faktory, které na toto mají vliv jsou teplota vody, koncentrace rozpuštěného kyslíku, množství amoniaku, nahromadění výkalů a jiných látek v nádobě, ve které se anestézie provádí.

Hlavní kritéria na ideální anestetikum a jeho působení jsou dle autorů Marking a Meyer (1985) tato: rychlá účinnost na ryby, netoxicita pro organismus, nepředstavuje žádné nebezpečí pro savce, zanechává zanedbatelná rezidua v tkáních, nízká cena, snadná dostupnost a snadná aplikace bez vedlejších následků na ryby, člověka a životní prostředí. Dále také uvádí, že všechny vyjmenovaná kritéria nesplňuje žádné dosud používané anestetikum.

Při hodnocení hloubky a odeznívání anestézie se v poslední době nejčastěji využívá klasifikace podle polských autorů Trzebiatowski a kol. (1996) a Kazuń a kol. (1999), udávajících u anestézie čtyři, respektive pět fází (fáze 0, I, II a, II b, III). Čtyři fáze také dříve uváděli Summerfelt a Smith (1990).

Fáze 0 – klid (fyziologická poloha, normální pohybová aktivita, ryby poklidně plavou, vyhýbají se překážkám a pravidelně dýchají)

Fáze I – vzrušení (fyziologická poloha, zvýšená pohybová aktivita, neklid, rychlé plavání, nevyhýbají se překážkám, silné obranné reflexy, nepravidelné dýchací pohyby, silně roztažená žábra)

Fáze II a – celkové povrchní znecitlivění (snížená pohybová aktivita, mírné naklápění na bok, oslabené nebo žádné obranné reflexy, dýchací pohyby zpomalené, pravidelné, intenzivní a hluboké)

Fáze II b – celkové úplné znecitlivění (poloha boční, ztráta pohyblivosti, žádné obranné reflexy, kromě akustického reflexu, dýchací pohyby pravidelné, hluboké a postupně se zpomalující)

Fáze III – zástava dýchání (zastavené dýchací pohyby nebo jen povrchní, mělké až zanikající, bez obranných reflexů (včetně akustického).

Odeznívání anestézie probíhá v obráceném pořadí:

Fáze II b – poloha boční, akustický reflex, pravidelné dýchání

Fáze II a – nekoordinované pohyby, náznak fyziologické polohy, pravidelné dýchání

Fáze I – fyziologická poloha, snížená pohybová aktivita, nekoordinované pohyby, nevyhýbání se překážkám při plavání

Fáze 0 – fyziologická poloha, normální pohybová aktivita, poklidné plavání, vyhýbání se překážkám

2.3.2 Charakteristika aplikovaného anestetika hřebíčkový olej

Hřebíčkový olej se používá jako anestetikum při běžné manipulaci a zákrocích na rybách při šlechtitelské práci, umělé reprodukci, odběrech krve a dalších veterinárních zákrocích. Jeho použití usnadňuje také manipulaci s velkými a příliš pohyblivými druhy ryb (Trebiatowski a kol. 1996; Iwama a kol. 1997; Wagner a kol. 2002).

Jedná se o tmavě hnědou kapalinu, získávanou destilací květů, listů a stonků hřebíčkových stromů (*Eugenia aromatica*) (Soto a Burhanuddin, 1995). Také Kene a kol. (1998) se s tímto tvrzením o destilaci květů, listů a stonků ztotožňuje, ale za zdroj považuje strom (*Eugenia caryophyllata*). Aktivní složkou hřebíčkového oleje je eugenol (4-allyl-2- methoxyphenol), který představuje 70 až 90 % hmotnosti hřebíčkového oleje, dále také obsahuje eugenol acetate v množství vyšším než 17 % a

katriofilen-5 cca 12 % (Hermani a Tangendaja, 1988). I Ross a Ross (1999) udávají složení hřebíčkového oleje a doplňují ho o celou řadu terpentýnových sloučenin, které dodávají nezaměnitelnou vůni, aroma a chuť. Stejný kolektiv autorů Ross a Ross (1999) dále hřebíčkový olej představují jako slabé anestetikum využívané již po staletí v Indonésii v lidovém léčitelství na tišení bolesti zubů a hlavy. Warren (1983) považuje hřebíčkový olej za narkoanestetikum a svalový uvolňovač nebo paralytickou drogu.

Doporučovaná koncentrace hřebíčkového oleje je 30 - 40 mg.l-1, anestézie nastupuje do 5 - 10 minut a doba zotavení je poněkud delší oproti jiným anestetikům např. 2-phenoxyethanolu (ethylen glycol monophenyl ether), kde doba zotavení v čerstvé vodě trvá zhruba 10 min. Přednost tohoto anestetika (přírodní původ) je zároveň i jeho nevýhodou. Nelze totiž přesně zjistit složení jednotlivých šarží a to je překážka pro získání registrační dokumentace, která musí obsahovat certifikát o přesném chemickém složení. Také nemá stanoven maximální limit reziduí (MRL), což vylučuje jeho aplikaci u zvířat určených k lidské konzumaci (konzumaci produktů nevyjímaje) (Kolářová a kol., 2006).

3. Metodika a materiál

3.1 Materiál

3.1.1 Generační ryby

K pokusům byly použity jikernačky sumce velkého původem z rybničního chovu podniků Rybářství Hluboká a.s., Rybářství Třeboň a.s. a Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech (VÚRH JU).

Bylo realizováno celkem sedm pokusů s hormonálně indukovaným umělým výtěrem sumce velkého. Pro první pokus, který byl realizován na rybí líhni Mydlovary v roce 2005, bylo použito devět jikernaček o průměrné hmotnosti 10,03 ± 3,57 kg. Pro druhý pokus, který byl realizován na rybí líhni Mokřiny v roce 2005, byly použity dvě jikernačky o průměrné hmotnosti 12,25 ± 0,25 kg. Pro třetí pokus, na rybí líhni Mokřiny v roce 2005, byly použity čtyři jikernačky o průměrné hmotnosti 10,38 ± 1,6 kg. Pro čtvrtý pokus, který byl realizován ve VÚRH Vodňany v roce 2006, byly použity čtyři jikernačky o průměrné hmotnosti 13,07 ± 1,03 kg. Pro pátý pokus, který byl uskutečněn taktéž ve VÚRH Vodňany v roce 2006, byly použity čtyři jikernačky o průměrné hmotnosti 12,03 ± 3,76 kg. V šestém pokusu, realizovaném ve VÚRH Vodňany v roce 2007, bylo použito šest jikernaček o průměrné hmotnosti 6,5 ± 1,16 kg. A pro sedmý pokus, který byl realizován na rybí líhni Mydlovary v roce 2007, byly použity čtyři jikernačky o průměrné hmotnosti 14 ± 1,8 kg.

3.1.2 Hormonální přípravky

K pokusům s hormonální indukcí ovulace jikernaček sumce velkého v rámci popisovaných experimentů byly použity tyto preparáty:

Suspenze dehydratované kapří hypofýzy (CPE - carp pituitary extract)

Jde o hypofýzy kapra obecného získané ve zpracovně ryb, odvodněné pomocí obvyklého postupu a uložené v suchém stavu v uzavřené lahvičce. Před aplikací se odvodněná kapří hypofýza rozdrtí, co nejvíce se rozmělní v třecí misce a rozpustí ve fyziologickém roztoku.

Ovopel

Je to maďarský kombinovaný preparát ve formě pelet.

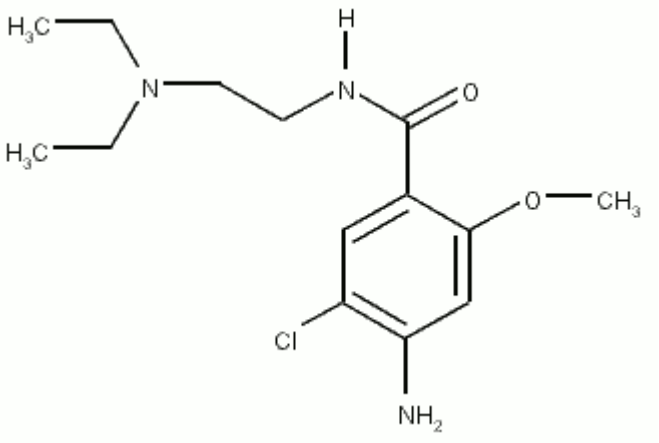
Jedna peleta obsahuje 20 μg syntetického GnRHa (des Gly10, D-Ala6, Pro9 NHEt – mGnRH) a 2 mg dopaminergního inhibitoru metoclopramid.

Před samotnou aplikací se rozpouští ve fyziologickém roztoku.

Dagin

Jde o kombinovaný přípravek obsahující funkční GnRHa a dopaminergní inhibitor. Je to izraelský preparát, dodávaný v lyofilizovaném stavu, před aplikací se rozpouští ve fyziologickém roztoku. Použitá dávka přípravku obsahovala 10 μg analogu lososího GnRH /D-Arg6, Pro9-NEt/-sGnRH a 20 mg dopaminergního inhibitoru (Metoclopramid) na 1 kg hmotnosti jikernaček (příbalový leták).

Obr. 4. Strukturní vzorec Metoclopramidu (Anonymus 2007b).



3.1.3 Anestetika

Anestetika byla použita při vážení, injikaci hormonálních přípravků, kontrole dosažení ovulace a vlastním umělém výtěru s cílem omezení manipulačního stresu u ryb a usnadnění práce s rybami. Použito bylo anestetikum hřebíčkový olej (Hamáčková a kol., 2001) v doporučované koncentraci 0,04 $ml.l^{-1}$. Při délce expozice zpravidla 5 - 10 min. Vlastní anestézie probíhala v nádobách vhodné velikosti o objemu roztoku anestetika 50 - 100 litrů.

3.1.4 Odlepkovací roztok

Odlepkovací roztok byl použit pro zamezení lepivosti jiker, což je nezbytné pro jejich další umělou inkubaci. Byl použit enzym alkaláza (Alcalase, Merc EC 3.4.21.14.). Podle kvality vody v líhni se enzym v objemu 20 ml enzymu (nižší dávka pro čistší vodu) dávkuje do 980 ml vody z líhně o teplotě 20 °C. Přidává se 100 ml roztoku enzymu na 100 g jiker, roztok se přelije do misky s jikrami, z nichž byla předem slita voda. Odlepkování se provádí opatrným mícháním jiker s enzymem po dobu 2 min. Těsně před ukončením odlepkování se enzym slije a přesně v druhé minutě od začátku odlepkování se jikry vysadí do Zugských lahví (Linhart a kol., 2001).

3.2 Metodika

V průběhu let 2005 až 2007 bylo provedeno sedm pokusů s hormonálně indukovaným umělým výtěrem u jikernaček sumce velkého, ke každému pokusu byla použita jiná skupina ryb. Jikernačkám byla jednorázově intramuskulárně (do hřbetní svaloviny) injikována hypofýza, nebo maďarský Ovopel, nebo izraelský preparát Dagin v doporučené dávce. Při všech pokusech se sledoval čas od injikace do ovulace a na jeho základě se vypočetla délka časového intervalu latence od injikace po výtěr v hodinách (h) a hodinových stupních (h°). Dále se hodnotilo % ovulujících

jikernaček a zaznamenávala se hmotnost vytřených jiker. U pokusů číslo 4, 5 a 6 bylo po výtěru odebráno několik jiker, zváženo a určena hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou. Nakonec bylo u pokusů 4, 5 a 6 odebráno od vytřených, osemeněných, oplozených a odlepkovaných jiker 50 kusů náhodně vybraných jiker pro určení oplozenosti a líhnivosti v %.

Na následujících řádcích popíši každý ze sedmi pokusů samostatně.

První pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (10. - 11. 5. 2005)

Generační ryby byly po šetrném výlovu z rybníku převezeny na rybí líheň (líheň Mydlovary). Kde byly rozděleny do laminátových žlabů po jedné, do třech hmotnostně vyrovnaných skupin, po třech jikernačkách v každé skupině. Teplota vody byla po celou dobu udržována na 20,5 °C.

Před samotnou injikací hormonálního přípravku byly generační ryby anestezovány v anestetiku hřebíčkový olej o koncentraci 0,04 $ml.l^{-1}$ při délce expozice 5 - 7 minut. Následně byla každá ryba individuálně zvážena.

První skupině byl jednorázově intramuskulárně injikován hormonální přípravek Dagin ve fyziologickém roztoku v dávce 10 µg.kg-1. Druhé skupině jikernaček byl jednorázově injikován hormonální přípravek Ovopel ve fyziologickém roztoku v dávce 1 $pel.kg^{-1}$. A třetí skupině byla jednorázově injikována hypofýza v dávce 4,5 $mg.kg^{-1}$.

Po aplikaci preparátů byly generační ryby navráceny zpět do laminátových žlabů po jedné. Před předpokládanou ovulací se ryby jednotlivě v cca 1 - 2 hodinových intervalech kontrolovaly a při dosažení spermiace a ovulace neprodleně uměle vytíraly. Při každé zkoušce spermiace a ovulace se musela provést anestézie v roztoku hřebíčkového oleje o totožné koncentraci jako u injikace. U výtěru schopných ryb se při intenzivní masáži břišní partie se současným pohybem prstů od hlavy směrem k močopohlavnímu otvoru objevilo sperma dohromady s močí či několik jiker.

Výtěr byl prováděn do předem připravených, zvážených a dokonale suchých plastových misek. Následně se zvážením zjistila hmotnost vytřených jiker od

jednotlivých jikernaček s přesností na 1 g. Získané jikry byly osemeněny spermatem mlíčáků sumce, které bylo předem odebráno do imobilizačního roztoku. Poté byl přidán aktivační roztok, po cca 5 minutách byl aktivační roztok slit a bylo zahájeno odlepkování jiker pomocí enzymu alkalázy. Jikry se opatrně s alkalázou promíchávaly. Přesně po dvou minutách se enzym opatrně slil a jikry se nasadily do devíti litrových Zugských lahvích, kde probíhala inkubace.

Při výtěru byl zaznamenán čas a na jeho základě vypočtena délka časového intervalu latence od injikace po výtěr v hodinách (h) a hodinových stupních (h°). Dále se hodnotilo % ovulujících jikernaček. Na základě známé hmotnosti vytřených jiker a hmotnosti jikernačky před výtěrem byla stanovena relativní hmotnost vytřených jiker (RHVJ) od jednotlivých jikernaček v %. Z těchto individuálních údajů byly vypočteny průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačových programech OpenOffice Tabulky a Statistica 6.

Druhý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (15. - 16. 6. 2005)

Generační ryby byly po šetrném výlovu z rybníku převezeny na rybí líheň (líheň Mokřiny). Kde byly rozděleny po jedné do betonových žlabů rozdělených mřížemi na sekce. Teplota vody byla po celou dobu udržována na 22 °C.

Po aklimatizaci byly ryby injikovány hormonálním přípravkem. Po uplynutí intervalu latence se vytíraly stejným postupem jak je uvedeno výše.

Při výtěru se zaznamenával čas, hmotnost vytřených jiker a z těchto údajů byly vypočteny výše uvedené charakteristiky.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačových programech OpenOffice Tabulky a Statistica 6.

Třetí pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (20. - 21. 6. 2005)

Třetí pokus probíhal, jako druhý pokus, na rybí líhni Mokřiny. Technologický

proces výtěru, sběr dat a vyhodnocování informací probíhalo stejně jako v předchozím pokusu. Lišila se jen teplota vody která byla udržována na 21,5 °C.

Čtvrtý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (19. - 21. 6. 2006)

Generační ryby byly z jarních výlovů přemístěny do manipulačních rybníčků ve VÚRH Vodňany. Rybníčky byly vhodně připraveny s dostatkem krmné ryby. Před předpokládáným výtěrem byly ryby sloveny, roztříděny podle pohlaví a umístěny jednotlivě do venkovních laminátových žlabů. Průměrná teplota vody byla 20,3 °C.

Podání hormonálního přípravku a umělý výtěr proběhly stejným způsobem jako je uvedeno výše.

Při výtěru se zaznamenával čas, hmotnost vytřených jiker a z těchto údajů byly vypočteny výše uvedené charakteristiky. Oproti předchozím výtěrům byla určena hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou a pomocí toho vypočtena relativní plodnost jikernaček $ks.kg^{-1}$ a obsolutní plodnost jikernaček v kusech jiker. Nakonec se hodnotil vliv hormonálního přípravku na oplozenost, líhnivost a přežití do konce embryonální periody. Od každé z vytřených jikernaček byly po oplození odebrány 3 vzorky po 50 jikrách. Vzorky byly individuálně inkubovány v Petriho miskách s čistou odstátou vodou. Po 24 hodinách se vyhodnotila oplozenost (50 mínus množství odstraněných bílých jiker) a vyměnila se voda. Po vykulení váčkového plůdku byla vyhodnocena líhnivost (oplozenost mínus množství odstraněných mrtvých a deformovaných kusů).

Pátý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (21. - 23. 6. 2006)

Pátý pokus probíhal, jako čtvrtý pokus ve VÚRH Vodňany. Technologický proces výtěru, sběr dat a vyhodnocování informací probíhalo stejně jako v předchozím pokusu. Lišila se jen průměrná teplota vody, která byla 20 °C.

Šestý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (11. - 12. 6. 2007)

Generační ryby byly z jarních výlovů přemístěny do manipulačních rybníčků ve VÚRH Vodňany. Rybníčky byly vhodně připraveny s dostatkem krmných ryby. Před předpokládáným výtěrem byly ryby sloveny, roztříděny podle pohlaví a umístěny jednotlivě do vnitřních nádrží, které byly napojeny na recirkulační systém v modelovém zařízení VÚRH Vodňany. Průměrná teplota vody byla 25,3 °C.

Podání hormonálního přípravku a umělý výtěr proběhly stejným způsobem jako je uvedeno výše.

Při výtěru se zaznamenával čas, hmotnost vytřených jiker a z těchto údajů byly vypočteny výše uvedené charakteristiky. Dále byla určena hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou a pomocí toho vypočtena relativní plodnost jikernaček $ks.kg^{-1}$ a obsolutní plodnost jikernaček v kusech jiker. Nakonec se odebraly jikry pro určení oplozenosti a líhnivosti způsobem, který je uveden výše.

Sedmý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (19. - 20. 6. 2007)

Poslední sedmý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem u sumce velkého probíhal na rybí líhni Mydlovary. Generační ryby byly po šetrném výlovu z rybníku převezeny na rybí líheň. Kde byly rozděleny do laminátových žlabů po jedné. Teplota vody byla po celou dobu udržována na 24,0 °C.

Po aklimatizaci ryb byly ryby injikovány hormonálním přípravkem Dagin po předchozí anestezii. Po uplynutí intervalu latence se ryby vytíraly stejným postupem jako je uvedeno výše.

Při výtěru byl zaznamenán čas a na jeho základě vypočtena délka časového intervalu latence od injikace po výtěr v hodinách (h) a hodinových stupních (h°). Dále se hodnotilo % ovulujících jikernaček. Na základě známé hmotnosti vytřených jiker a hmotnosti jikernačky před výtěrem byla stanovena relativní hmotnost vytřených jiker (RHVJ) od jednotlivých jikernaček v %. Z těchto individuálních údajů byly vypočteny průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačových programech OpenOffice Tabulky a Statistica 6.

4. Výsledky

4.1 Hormonálně indukovaný umělý výtěr

První pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (10. - 11. 5. 2005)

Při teplotě vody 20,5 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 100 % jikernaček ve všech třech skupinách. Průměrná hmotnost jikernaček byla 10,03 kg. Průměrná délka intervalu latence byla u přípravku Dagin 44,3 hod., u přípravku Ovopel 45,3 hod. a u hypofýzy 26,8 hod., což je výrazně nižší, než u předchozích preparátů. Nejvyšší průměrná relativní hmotnost jiker počítaná ze všech jikernaček ve skupině byla zjištěna při injikaci přípravkem Dagin (13,4 %), následovala skupina injikovaná přípravkem Ovopel (10,5 %) a skupina injikovaná hypofýzou (5,8 %). Rozdíly mezi relativní plodností u jikernaček injikovaných Daginem, Ovopelem a hypofýzou jsou statisticky signifikantní. Z hlediska plodnosti se tedy nejlépe osvědčil přípravek Dagin a proto se v ostatních pokusech používal jen tento hormonální přípravek. Výsledky přehledně uvádí tab. 3.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	3	100	9,7 ± 3,9	13,4 ± 0,5a	44,3 ± 0,61	909 ± 12,08
Hypofýza 4,5 mg.kg-1	3	100	10,7 ± 2,9	5,8 ± 0,9b	26,8 ± 0,51	545 ± 10,16
Ovopel 1 kus.kg-1	3	100	9,7 ± 3,9	10,5 ± 0,5c	45,3 ± 0,82	923 ± 16,25

Legenda: Různými písmeny označené hodnoty znamenají, že rozdíly mezi nimi jsou statisticky signifikantní.

Tab. 3: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (10. - 11. 5. 2005).

Druhý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (15. - 16. 6. 2005)

Při teplotě vody 22,07 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 100 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 12,25 kg a průměrná délka intervalu latence byla 29,75 hod. Výsledky přehledně uvádí tab. 4.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	2	100	12,25 ± 0,25	4,7 ± 4,46	29,75 ± 0,25	656,5 ± 5,5

Tab. 4: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (15. - 16. 6. 2005).

Třetí pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (20. - 21. 6. 2005)

Při teplotě vody 21,57 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 75 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 10,38 kg a průměrná délka intervalu latence byla 32,33 hod. Výsledky přehledně uvádí tab. 5.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	4	75	10,38 ± 1,6	7,75 ± 1,75	32,33 ± 1,64	697,33 ± 35,61

Tab. 5: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (20. - 21. 6. 2005).

Čtvrtý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (19. - 21. 6. 2006)

Při teplotě vody 20,28 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 75 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 13,07 kg, průměrná délka intervalu latence byla

40,5 hod, relativní plodnost byla 12793 ks.kg^{-1} a hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou činila 7,41 mg. Výsledky uvádí tab. 6.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	4	75	13,07 ± 1,03	9,48 ± 0,92	40,5 ± 0,89	821,33 ± 18,26

Přípravek (dávka)	Absolutní plodnost průměr ± SD (ks)	Relativní plodnost průměr ± SD (ks.kg-1)	Hmotnost 1 jikry (s ovariální tekutinou) průměr ± SD (mg)	Oplozenost průměr ± SD (%)
Dagin 10 µg.kg-1	168264 ± 20316	12793 ± 587	7,41 ± 0,63	83,33 ± 17,15

Tab. 6: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (19. - 21. 6. 2006).

Pátý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (21. - 23. 6. 2006)

Při teplotě vody 20,09 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 75 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 12,3 kg, průměrná délka intervalu latence byla 41,42 hod, relativní plodnost byla 13842 ks.kg^{-1} a hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou činila 6,55 mg. Výsledky přehledně uvádí tab. 7.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	5	60	12,3 ± 3,76	8,91 ± 2,72	41,42 ± 1,43	832,33 ± 28,67

Přípravek (dávka)	Absolutní plodnost průměr ± SD (ks)	Relativní plodnost průměr ± SD (ks.kg-1)	Hmotnost 1 jikry (s ovariální tekutinou) průměr ± SD (mg)	Oplozenost průměr ± SD (%)
Dagin 10 µg.kg-1	182252 ± 33333	13842 ± 4963	6,55 ± 0,69	92,44 ± 5,4

Tab. 7: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (21. - 23. 6. 2006).

Šestý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (11. - 12. 6. 2007)

Při teplotě vody 25,31 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 67 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 6,5 kg, průměrná délka intervalu latence byla 27,4 hod, relativní plodnost byla 8845 ks.kg^{-1} a hmotnost jedné jikry s ovariální tekutinou činila 4,66 mg. Výsledky přehledně uvádí tab. 8.

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	6	67	6,5 ± 1,16	4,16 ± 1,89	27,4 ± 0,47	693,5 ± 12,09

Přípravek (dávka)	Absolutní plodnost průměr ± SD (ks)	Relativní plodnost průměr ± SD (ks.kg-1)	Hmotnost 1 jikry (s ovariální tekutinou) průměr ± SD (mg)	Oplozenost průměr ± SD (%)
Dagin 10 µg.kg-1	53103 ± 27330	8845 ± 3815	4,66 ± 0,15	92,33 ± 8,13

Tab. 8: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (11. - 12. 6. 2007).

Sedmý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (19. - 20. 6. 2007)

Při teplotě vody 23,95 °C ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 100 % jikernaček. Průměrná hmotnost jikernaček byla 14 kg a průměrná délka intervalu latence byla 30,35 hod. Výsledky přehledně uvádí tab. 9.

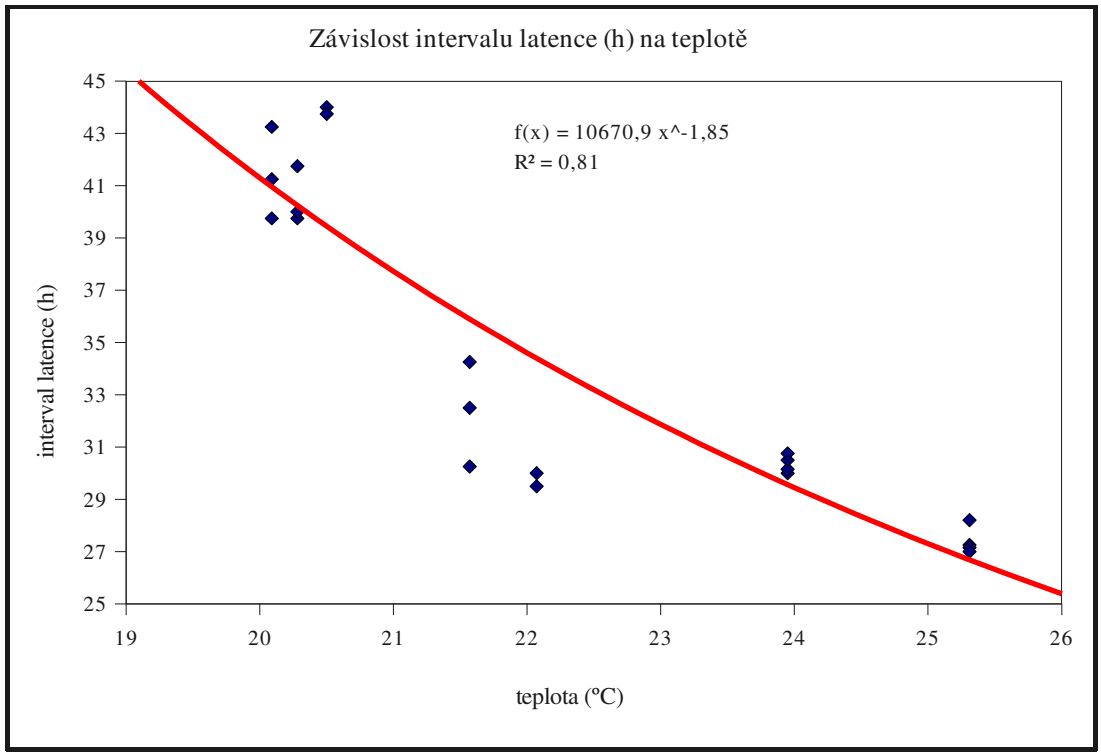
Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (kg)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	Vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin 10 µg.kg-1	4	100	14 ± 1,8	9,45 ± 1,8	30,35 ± 0,29	726,88 ± 7,03

Tab. 9: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček sumce velkého (19. - 20. 6. 2007).

Sumární výsledky umělých výtěrů

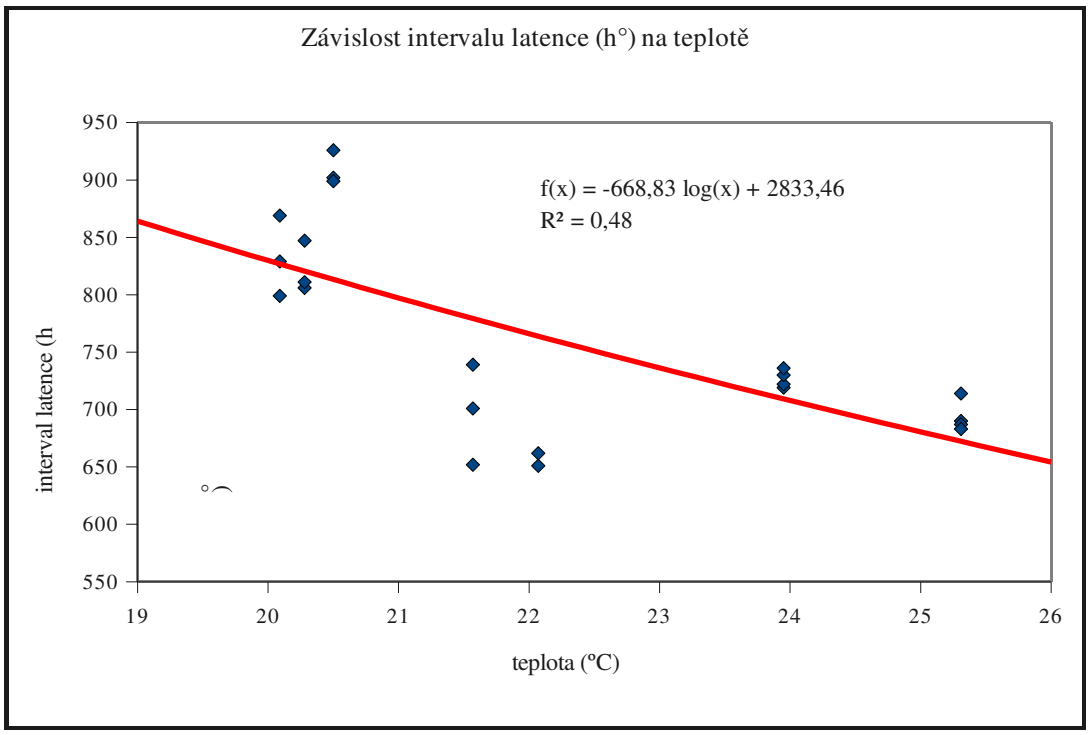
V sumárních výsledcích jsou zahrnuty jen jikernačky injikované hormonálním přípravkem Dagin.

Podle obr. 5 byla zjištěna závislost intervalu latence na teplotě vody při hormonálně indukované ovulaci jikernaček sumce velkého pomocí kombinovaného přípravku Dagin při teplotách v rozpětí 20,1 – 25,3 °C.



Obr. 5: Závislost intervalu latence v hod. na teplotě vody u sumce velkého po injekčním podání přípravku Dagin.

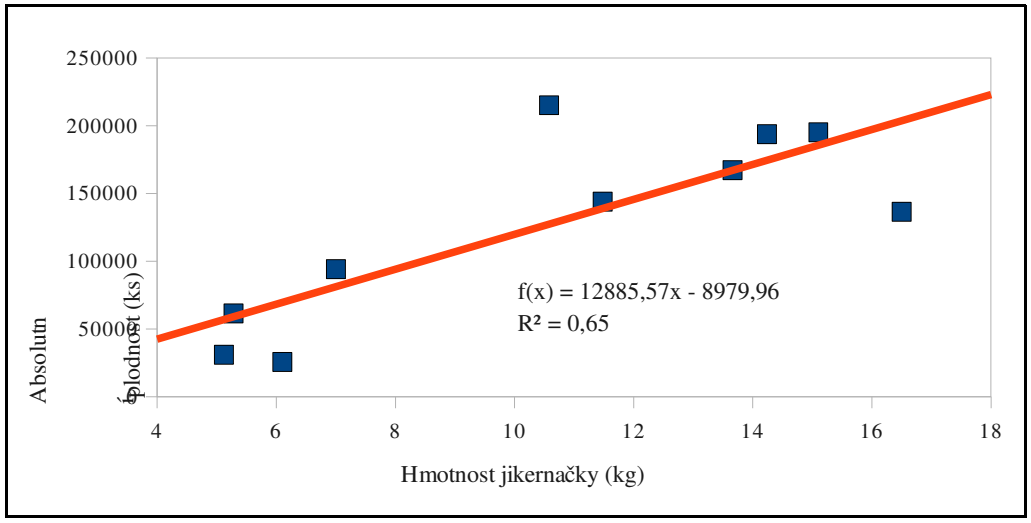
Při pokusech s umělým výtěrem jikernaček sumce byla zjištěna závislost intervalu latence v h° na teplotě vody při vyvolání ovulace kombinovaným hormonálním přípravkem Dagin (obr. 6).



Obr. 6: Závislost intervalu latence v h° na teplotě vody u sumce velkého po injekčním podání přípravku Dagin.

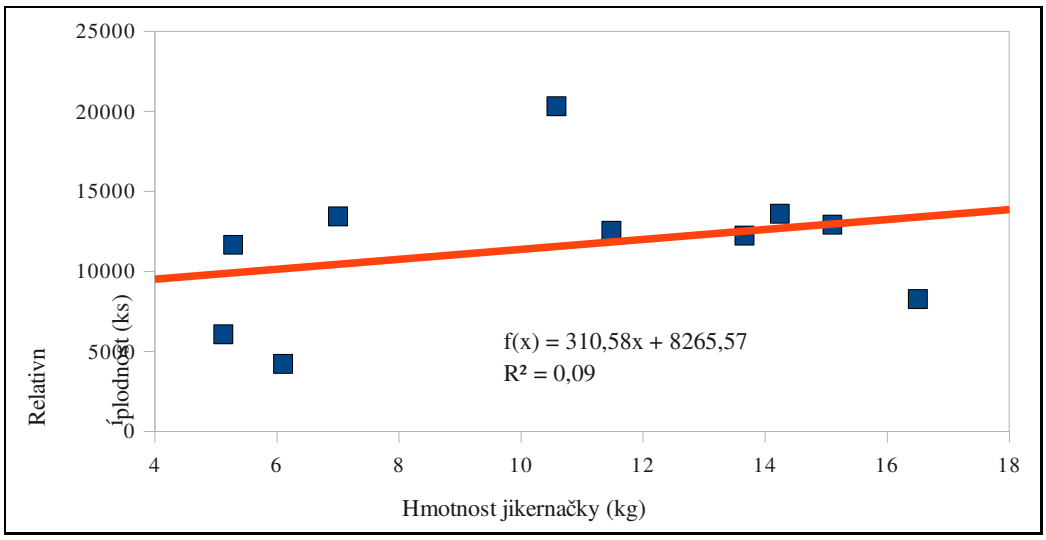
Nejnižší relativní hmotnost vytřených jiker byla 4,16 ± 1,89 % u šestého pokusu. Nejvyšší relativní hmotnost vytřených jiker byla dosažena u prvního pokusu 13,4 ± 0,5 %. A průměrná relativní hmotnost vytřených jiker ze všech pokusů, při použitém přípravku Dagin byla 8,26 ± 2,92 %.

Absolutní plodnost všech vytřených jikernaček sumce velkého dosahovala 25 695 – 215 064 ks jiker. Nejmenší vytřená jikernačka vážila 5,12 kg a největší 16,5 kg (obr. 7).



Obr. 7: Absolutní plodnost v závislosti na hmotnosti jikernaček.

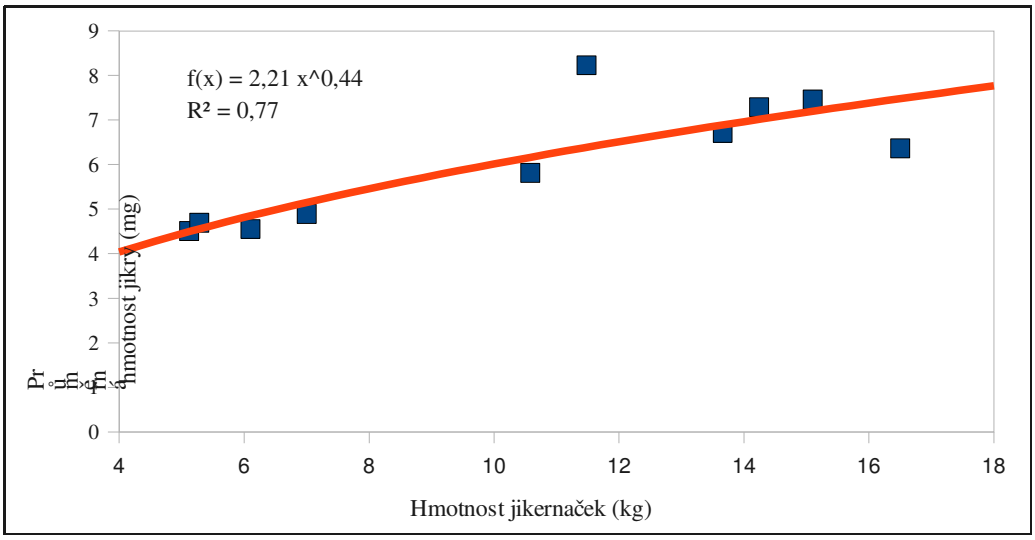
Relativní plodnost všech vytřených jikernaček kolísala v rozpětí 4 212 - 20 327 ks jiker.kg^{-1} hmotnosti jikernačky.



Obr. 8: Relativní plodnost v závislosti na hmotnosti jikernaček.

Hmotnost jiker stoupá s hmotností jikernaček. Přičemž u ryb do cca deseti kilogramů průměrná hmotnost jiker pozvolna stoupá a u ryb nad cca 10 kilogramů se již průměrná hmotnost jiker vyrovnává. Průměrná hmotnost jedné vytřené jikry

včetně ovariální tekutiny činila 4,51 - 8,23 mg (obr. 9).



Obr. 9: Průměrná hmotnost jedné jikry v závislosti na hmotnosti jikernaček.

4.2 Oplozenost a líhnivost jiker

Při injikaci hormonálním přípravkem Dagin bylo dosaženo celkové průměrné oplozenosti 88,7 % a celková průměrná líhnivost plůdku byla 76,64 % ze všech provedených a sledovaných pokusů.

5. Diskuze

Z provedených experimentů vyplývá, že hormonální přípravek Dagin je odpovídající preparát pro vyvolání ovulace u jikernaček sumce. V experimentu byl ověřen jeho pozitivní účinek na vyvolání ovulace a možnost provedení umělého výtěru po jeho injekčním podání jikernačkám sumce velkého. Při aplikaci tohoto preparátu v dávce 10 $\mu g.kg^{-1}$ bylo dosaženo nejlepší relativní hmotnosti vytřených jiker. O poznání horší výsledky byly dosaženy při použití Ovopelu (1 $kus.kg^{-1}$) a hypofýzy (4,5 $mg.kg^{-1}$). Jako srovnatelné, nebo účinnější než aplikace kapří hypofýzy se u mnoha rybích druhů (jeseter malý, lipan podhorní, štika obecná, lín obecný, kapr obecný, jelec jesen, amur bílý, perlín ostrobřichý, hrouzek obecný, podoustev říční, sumec velký, okoun říční, candát obecný a cípal dálněvýchodní) ukázalo použití funkčních analogů GnRH (Kouřil a kol., 2006a). O pozitivních účincích Ovopelu na hormonální stimulaci u kapra obecného upozornil Horváth a kol. (1997). Účinnost Ovopelu byla též potvrzena u sumce velkého (Brzuska, 2001). Výjimku představuje tolstolobik bílý, u kterého nedošlo při aplikaci Lecirelinu, respektive Daginu k ovulaci žádné jikernačky, naopak při podání kapří hypofýzy došlo k ovulaci u všech jikernaček (Kouřil a kol., 2006a).

Kouřil a kol. (1987) při injikaci jikernaček sumce dosáhli 100 % ovulace při použití kapří hypofýzy i při použití analogu LH-RH. Při použití kapří hypofýzy, GnRH a GnRH společně s dopaminovým inhibitorem shodně 80 % injikovaných jikernaček sumce ovulovalo. U jikernaček injikovaných samotným dopaminovým inhibitorem nebo fyziologickým roztokem nebylo ovulace dosaženo (Kouřil a kol., 1996c). V letech 2005 – 2007 bylo v našem experimentu celkem injikováno přípravkem Dagin 28 jikernaček sumce a z tohoto množství 22 ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno. Dosáhli jsme tedy 79% ovulace. Výše uvedené výsledky naznačují, že co se týče množství ovulovaných jikernaček sumce, všechny použité přípravky dosahují přibližně stejných hodnot.

Průměrná hodnota relativní hmotnosti vytřených jiker u přípravku Dagin byla 8,26 ± 2,92 %. Ve srovnání s výsledky relativní hmotnosti vytřených jiker

dosaženými Kouřilem a kol. (1996c), který s jiným analogem GnRH spolu s dopaminergním inhibitorem docílil u sumce hodnot 8,3 ± 4,3 % a dosaženými Brzuska (2003), která s přípravkem Ovopel docílila u sumce hodnot 9,11 ± 1,11 %, jsou námi dosažené průměrné hodnoty u úspěšných dávek podobné.

Byla zjištěna závislost intervalu latence na teplotě vody při hormonálně indukované ovulaci jikernaček sumce velkého pomocí kombinovaného přípravku Dagin při teplotách v rozpětí 20,1 – 25,3 °C. Délka intervalu latence na teplotě vody je nepřímo závislá. Kouřil a kol. (2006b) zjistili statisticky průkaznou závislost délky intervalu latence na teplotě vody u Amaru bílého (*Ctenopharyngodon idella)* při použití hormonálního přípravku Dagin. Yaron a kol. (2002) zjistili také nepřímou závislost intervalu latence na teplotě vody u kapra, ale v rozmezí teplot vody od 22,5°C do 24°C byla doba intervalu latence konstantní, jak při použití kalibrovaného extraktu hypofýzy, tak i při použití přípravku Dagin. Toto rozmezí je považováno za optimální rozsah teplot pro výtěr kapra.

Při použití přípravku Dagin se doba intervalu latence zvýšila o 50 - 65% naproti hypofýze. Yaron a kol. (2002) uvádí navýšení doby latence o 6 hod. při použití Daginu u kapra naproti hypofýze. Tento rozdíl představuje nárůst o 60 %.

Námi zjištěné hodnoty relativní plodnosti se u Daginu pohybovaly v průměru 11 529 ± 4 275 ks jiker.kg-1 (rozmezí 4 212 - 20 327 ks.kg^{-1}). Kouřil a kol. (1996c) dospěl ve svém experimentu s umělým výtěrem sumce k podobnému výsledku (12 791 ± 6 676 ks jiker.kg^{-1}) u jikernaček ošetřených pomocí analogu savčího GnRH společně s dopaminovým inhibitorem isofloxythepinem. Stejný autor dosáhl při použití analogu LH-RH relativní plodnosti 11 100 ± 8 700 ks jiker.kg^{-1} u jikernaček sumce (Kouřil a kol., 1987).

Průměrná hmotnost jedné vytřené jikry od všech zkoumaných jikernaček v našem pokusu činila 6,05 ± 1,29 mg (v rozpětí 4,51 - 8,23 mg). Při srovnání s průměrnou hmotností jedné vytřené jikry v pokusu Kouřila a kol. (1987) (5,24 ± 0,29 mg při použití hypofýzy a 5,64 ± 0,29 mg při použití analogu LH-RH) musíme ale dodat, že u našeho experimentu se jednalo o hmotnost jedné jikry včetně ovariální tekutiny, na rozdíl od pokusu z roku 1987, kdy se jednalo o průměrnou hmotnost jedné suché vytřené jikry.

Při injikaci hormonálním přípravkem Dagin bylo v experimentech dosaženo celkové průměrné oplozenosti 88,7 % a celková průměrná líhnivost plůdku byla 76,64 % ze všech provedených a sledovaných pokusů. Oplozenost jiker při použití hypofýzy a hormonálního přípravku Ovopel zkoumala podrobně Brzuska (2003). Při použití hypofýzy byla oplozenost 87,63% a při použití Ovopelu 91,93%. Dosáhla tedy podobných hodnot jako my.

Výše uvedené výsledky tedy prokazují, že izraelský hormonální přípravek Dagin obsahující funkční GnRHa a dopaminergní inhibitor je možné úspěšně používat v rybářské praxi pro hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček sumce velkého. Jedinou jeho nevýhodu je delší zjištěný interval latence (při 22 °C a to 29,75 hod., 656,5 h°) naproti kapří hypofýze (při 23 °C; 20,4 hod., 482 h° (Kouřil a kol., 1996c)).

6. Závěr

Pokusy ukázaly, že použitý kombinovaný přípravek Dagin je účinný k indukci ovulace jikernaček sumce a přináší plně uspokojivé výsledky, hlavně v ukazatelích % vytřených jikernaček a dosažené pracovní plodnosti (relativní hmotnost vytřených jiker). U prvního pokusu rozdíly v plodnosti jsou ve srovnání s použitím přípravku Ovopel nebo kapří hypofýzy statisticky signifikantní. A proto lze přípravek Dagin, s ohledem na cenu a další výhody použití tohoto syntetického hormonálního přípravku pro indukci ovulace u sumce doporučit.

V rámci sledování byl zjištěn originální výsledek. Byla stanovena závislost délky intervalu latence od jednorázové injikace vybraného hormonálního přípravku Dagin na teplotě vody, v rámci fyziologického rozpětí reprodukce tohoto druhu ryby. Znalost této závislosti umožní přesnější plánování a organizaci práce na rybích líhních, zabývajících se umělou reprodukcí sumce, při použití přípravku Dagin. Lze s vysokou pravděpodobností předpokládat identický průběh zjištěné závislosti i při použití dalších přípravků obsahujících jinou účinnou kombinaci GnRHa a DI (Ovopel), resp. přípravků obsahujících samotný GnRHa (Supergestran). Je otázkou, zda-li lze při použití preparátu Dagin (resp. jiných přípravků na bázi GnRHa, resp. GnRHa a DI) považovat, ve srovnání s použitím hypofýzy, prodlouženou dobu intervalu latence za nevýhodu. Při vhodné organizaci práce na rybí líhni toto nepřináší žádný zvláštní problém.

V provozních podmínkách byl v rámci pokusů ověřen i další postup umělého výtěru jikernaček sumce velkého, tzn. osemenění, aktivace, odlepkování a inkubace jiker a ukázal se jako vhodný.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Anonymus,2003:Isofloxythepin.<http://www.psychotropics.dk/usr_view_molecule.asp?ID=1707&backurl=Codeindex%2Fview%5FCodes%2Easp%3FStartc%3DV&backurlname=Code+ numbers&historyline=&Catalogtype=A>.

Anonymus,2007a:Nerestin.[online].[cit.02-04-2007].<http://www.nerestin.narod.ru>.

Anonymus,2007b:Metoclopramid<http://images.google.cz/imgresimgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/ec/Metoclopramide.png/200pxMetoclopramide.png&imgrefurl=http://de.wikibooks.org/wiki/Pharmakologie_und_Toxikologie:_MagenDarmTrakt&h=136&w=200&sz=7&hl=cs&start=11&u>.

Anonymus,2009:Sumecvelký.<http://www.rybsvaz.cz/pages_cz/testrz/obrazky/sumec_velky.jpg>.

Banarescu, P., 1964: Pisces – Osteichthyes. Fauna Republicii Populare Romine 13. Ed. Acad. RPR, Bucuresti, 959 s.

Barth, T., Barthová, J., Hauzerová, J., Kouřil, J., Hamáčková, J., 2000: Komplementární látky využívané při ovulaci ryb pomocí GnRH analogů. Sb. referátů z IV. české ichtyologické konference, Vodňany, 194-197 s.

Barth, T., Kouřil, J., 1981: Účinek hypothalamického faktoru, luliberinu a jeho syntetických analogů na ovulaci jiker při umělém výtěru ryb. In: Sb. Reprodukce, genetika a hybridizace ryb (Red. Berka, R., Kouřil, J.), Slovenská zool. spol. ichtyol. sekce, Vodňany, 75-77 s.

Barth, T., Kouril, J., 1986: Indukce ovulace ryb hypothalamickým faktorem - luliberinem. In: Sb. Reprodukce a genetika ryb, Vodnany, Slov. zool. spol. - ichtyol. sekce, s. 170-173s.

Barthová, J., Hamáčková, J., Kouřil, J., Barth, T., Hauzerová, L., Hulová, I.,. Kozák, P., 2000: Isofloxythepin, a new β-dopaminergic inhibitor used during the induction of spawning of several species of fish. Aqua 2000, Nice, France, 62s.

Baruš, V., Oliva, O., 1995: Mihulovci Petromyzontes a ryby Osteichtyes (2). Praha, Academia.: 294-305 s.

Berg, L. S., 1948-1949: Ryby přesných vod SSSR i sopredelnych stran. Izd. AN

SSSR, Moskva. Č. 1, 1948, 466 s.

Billard, R., 1994: Spermiation and sperm quality of European catfish (*Siluris glanis* L.) after GnRH implantation and injection of carp pituitary extracts. J. Appl. Ichtyol., 10: 182-188 s.

Billard, R., Linhart, O., Fierville, f., Cosson, J., 1997: Motility of *Silurus glanis* spermatozoa in the testis and in the milt. Pol. Arch.Hydrobiol., 44: 115-122 s.

Brožová, V., Svobodová, Z., 1986: Anestetika pro ryby (přehled). Bul. VÚRH Vodňany, 22(4): 36-40 s.

Brzuska, E. 2001: Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. Aquacult. Res., 32: 11-19 s.

Brzuska, E. 2003: Artificial propagation of European catfish (*Silurus glanis*): application of a single dose of pellets containing D-Ala^6, Pro^6, NHEt-*m*GnRH and dopamine inhibitor metoclopramide to stimulate ovulation in females of different body weight. Cz. J. Animal.Sci. 48(4): 152-163 s.

Brzuska E., Adamek J. (1999): Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.; stimulation of ovulation using LHRH-a, Ovaprim and carp pituitary extract. Aquacult. Res., 30, 59–64 s.

Bubeníček, J., 1898: O rybách a jejich chytání. Nakl. E. Beaufort, Praha, 266 s.

Cosson, J., Billard, R., Cibert, Ch., Dreanno, C., Linhart, O. And Suquet, M., 1997: Movements of fish sperm flagella studied by high speed videomicroscopy coupled to comptur assisted image analysis. Pol. Arch. Hydrobiol., 44: 103-113 s.

Cooperative Team, 1975: Experiments on inducement of spawning in domestic fish by injection of synthetized luteinizing hormone – releasing hormone (LH-RH). Kexue Tongbao, 20:43-48 s.

Donaldson, E. M., Hunter, C. A., Dye, H. M., 1981: Induced ovulation in pacific salmon using LH-RH analog of salmon gonadotropin. 9th Int. Symp.

Comp. Endocrinol. (abstr.), 137 s.

Dyk, V., 1956: Potravní základna v pstruhových vodách. Sb. ČSAZV – Živoč. Výroba, 29 (12): 985 – 990 s.

Fijan, N. 1975: Induced spawning, larval rearing and nursery operations *Silurus glanis*. EIFAC Technical Papers (FAO), No 25, s. 130-138 s.

Fijan, N. 1976: Prvi umjetni mrest soma. Ribarst. Jug. 6: 134-136 s.

Flajšhans, M., Daněk, O., 1994: Použití systému P.I.T. Tagging a programu GENOA verze 1.0 ke značkování a operativní evidenci sumce velkého (*Silurus glanis*) ve šlechtitelském programu. Bulletin VÚRH, 30,(4):128 – 133 s.

Flajšhans, M., Linhart, O., Slechtova, V., Slechta, V., 1999: Genetic resources of commercially important fish species in the Czech Republic: Present state and future strategy. Special edition Genetics in Aquaculture VI, Aquaculture 173: 471–483s.

Gerbilskij, N. L., 1941: Metod gipofyzarnych injekcij i ego rol´ v rybovodstve. In: Metod gipofizarnych injekcij i ego rol´ v vosproizvodstve rybnych zapasov. Leningrad, 5-36 s.

Goetz, F. W., Berndson, A. K., Rajnan, M., 1991: Ovulation: mediators at the ovarian levels. In: Vertebrate Endocrinology: Fundamantal and Biomedical Implications, vol. 4A (eds. Pang, P. K. T., Schreibman, M. P.), Acad. Press, New York and London, 127-203 s.

Haffray, P., Enright, W. J., Driancourt, M. A., Mikolajczyk, T., Rault, P., Breton, B., 2005: Optimization of breeding of Salmonids: GonazonTM, the first officially approved inducer of ovulation in the EU. World Aquaculture, 36 (1):52-56 s.

Haffray, P., Vauchez, C., Vandeputte, M., Linhart, O., 1998: Differnt growth and processing traits in males and females of Europesn catfish, *Silurus glanis*. Aquat. Living Resour., 11: 341-345 s.

Hamáčková, J., Lepičová, A., Kouřil, J., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., Stupka, Z., 2001: Anesteziologický účinek hřebíčkového oleje u lína obecného (*Tinca*

tinca) v závislosti na teplotě vody. Bull. VÚRH JU Vodňany, 4:147-152 s.

Hasler, A. D., 1939: Spawning induced prematurelly in trout with the aid of pituitary glands of the carp. Endocrinol. 25: 978-982 s.

Hermani, Tangendaja, B., 1988: Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secara kromatogrfi. Media Penelitian Sukamandi, 6: 57-65 s. (in Indonesian).

Hochman, L., 1966a: K odchovu sumčího plůdku v rybnících. Živočiš. Výroba, 11 (9): 683-692 s.

Hochman, L., 1966b: Zum Wachstum des Welses Silurus glanis L. Acta Univ. Agric. Brno, ser. A 4: 597-615 s.

Hochman, L. 1967: Importance of growh indexes in estimation sexual maturity in the sheat-fish, *Silurus glanis* L. Zool. Listy, 16(2): 183-192 s.

Hochman, L., 1969: Možnosti hromadného odchovu sumčího plůdku při použití umělého odkrmu. Publikace AF VŠZ Brno – rybářská specializace (sborník), 107-118 s.

Hochman, L., 1970: Význam klimatických podmínek při výtěru sumce. Acta Univ. Agric. Brno, ser. A, 18 (3): 471-477 s.

Hochman, L., et Krčál, J., 1957: Některé zkušenosti s poloumělým výtěrem sumce velkého (*Silurus glanis* L.) v Pohořelicích. Sb. VŠZL v Brně, ř. A, 1957 (2): 239-250 s.

Horoszewicz, L., 1971: Sum. PWRiL, Warszava, 191s.

Horváth, L., Szabó, T., Burke, J., 1997: Hatchery testing of GnRH analogue-containg pellets on ovulation in four cypriniae species. Pol. Arch. Hydrobiol., 44: 221-226 s.

Horváth, L., Tamás, G. 1976: A hárcsa (*Silurus glanis* L.) szaporitás és az ivadélőnevelése. Halászat (vědecká příloha), 2: 11-13 s.

Horváth, L., Tamás, G., Seagrave, Ch., 1992: Carp and pond fish culture. Including Chinense herbivorous species, pike, tench, yander, wels, catfish and golfish. Oxford. Fishing News Book.

Horváth, L., Tamás, G., Tolg, I., 1984: Special methods fish husbandry. Budapest. Akademiai Kiadó.

Hulová, I., Barthová, J., Entlicher, G., Maletínská, L., Barth, T., Hrbas, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., 1994: The FPLC of soluble proteins from dehydrated carp hypophysis. Measures for succes, Bordeaux Aquaculture, 24:156-157 s.

Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P., Schreck C.B., 1997: Fish stress and Health in Aquaculture. Cambridge Univ. Press, UK, 278 s.

Jalabert, B., Breton, B., Brzuska, E., 1977: A new tool for induced spawning: the use of 17- hydroxy-20dihydroxyprogesterone to spawn carp at low temperature. Aquaculture, 10: 353-354 s.

Kazuń, K., Siwicki, A. K., Glabski, E., 1999: Badania nad przydatnoscia preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego ryb karpiowatych. IV. Krajowa konferencija hodowców karpia, Kiekrz, Wydawnictwo IRS Olsztyn, 57-60 s.

Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., Soto, C. G., 1998: The efficacy of clov oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29: 89-101 s.

Khan, I .A., Thomas, P., 1992: Stimulatory effects of serotonin on maturational gonadotropin release in the Atlantic croaker, Micropogonias undulatus. Gen. Comp. Endocrinol., 88: 388-396 s.

Kobayashi, M., Aida, K., Hanyu, I., 1989: Induction of of gonadotropin surge by steroid hormone implantation in ovarioctomized and sexually regressed female goldfish. Gen.Comp.Endocrinol., 73(3):469-476 s.

Kobayashi, M., Stacey, N., 1993: Prostaglandin induced female spawning behavoir in goldfish (*Carassius auratus*) appears independent of ovarian influence. Hormones and Behavoir, 27:38-55 s.

Kolářová, J., Svobodová, Z., Nepejchalová, L., Velíšek, J., Plačková, V., 2006: Anestezie ryb v České republice. Bul. VÚRH Vodňany, 42 (3): 105-108 s.

Kouřil, J., Barth, T., 1981a: Docílení ovulace jiker pomocí LH-RH při umělém výtěru lína obecného (*Tinca tinca* L.). Bul. VÚRH Vodňany, 17 (1): 13-18 s.

Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J. 1987: Stripping the females of sheatfish (*Silurus*

glanis L.) with LH-RH analog induction. Práce VÚRH Vodňany, 16:62-68 s.

Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., 2006a: Hormonálně indukovaná umělá reprodukce ryb. In: Sb. Konf. Biotechnologie, České Budějovice.: 3 s.

Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., Flegel, M., Přikryl, I., 1986: Indukovaný výtěr jikernaček lína obecného (*Tinca tinca* L.) při injekčním podání hypofýzy a analogu LH-RH na různá místa rybího těla. Buletin VÚRH Vodňany 2: 30-39 s.

Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., Macháček, K., Hrbas, P., Píchová, J., Pícha, J., 1985: Indukovaná ovulace kapra a lína: použití rozpustné frakce nativní a dehydrované hypofýzy. Bul. VÚRH Vodňany, 1: 13-20 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J. 1992. Artificial spawning, egg incubation and forced fry rearing of the sheat-fish (*Silurus glanis*). Práce VÚRHVodňany, 11: 119-126 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., 1996a: Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček lína obecného (*Tinca tinca* L.) pomocí syntetických analogů GnRH. In: Flajšhans, M. (Ed.): Sborník vědeckých prací k 75. výročí založení VÚRH. VÚRH JU Vodňany, 47-58 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Bekh, V.,Kubryashev,S.,Kubryasheva,M.,Barth,T.,Kozák,P. 2006b: Application of preparations containing GnRH analogues with/ without dopaminergic inhibitor to ovulation in bighead carp *Arisichthys nobilis,* silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* and grass carp *Ctenopharyngodon idella*. In: Proc. Conf. AQUA 2006 (CD-ROM), Firenze (Italy), WAS andEAS, 483 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Bartlová, J., 1999: Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik VÚRH Vodňany, č. 61: 4 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Kepr, I., 1981b: Umělý výtěr sumce. In: Reprodukce, genetika a hybridizace ryb. Vodňany, 128-134 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Kozák, P., 1996b: Vliv různé úrovně výživy generačních sumců obojího pohlaví v předvýtěrovém období na produkční a reprodukční

ukazatele In: Kozák, P., Hamáčková, J. (eds.). Sborník referátů z Ichtyologické konference. 195-200 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Linhart, O., Barth, T., Glubokov, A.I., Haffray, P. 1996c: Induced ovulation of European catfish (*Silurus glanis* L.) by carp pituitary, GnRH analogue and/or dopamine inhibitor isofloxythepin. Živočiš. Výroba, 41(5):205-207 s.

Kouřil, J., Macháček, J., Skácelová, O., 1984: Odkrm raného plůdku sumce velkého (*Silurus glanis* L.) třemi různými dietami. Bul. VÚRH Vodňany, 1984 (2): 3-12 s.

Kouřil, J., Slaninová, J., Servítová, L., Barth, T., Flegel, M., 1982: Induced spawning of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) by means of LH-RH. In: Proc. 2nd International Symposium on Herbivorous Fish, Novi Sad (Yugoslavia), s. 70-75 s.

Kouřil, J., Vachta, R., Hamáčková, J., 1990: Vliv intramuskulární, intraperitoneální a dorzální injekční aplikace analogu GnRH na výsledky umělého výtěru jikernaček lína becného (*Tinca tinca* L.). Buletin VÚRH Vodňany, 3:11-14 s.

Kudo, S., Linhart, O., Billard, R., 1994: Ultrastructural studies of sperm penetration in the egg of the European catfish (*Silurus glanis* L.). Aquat.Liv.Res., 7(2): 93-98 s.

Legendre, M., Linhart. O., Billard, R., 1996: Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. Aquat. Living. Resour., 9:229-235 s.

Lelek, A., Bezděk, R., Libosvárský, J., Macháček, Z., Peňáz, M., 1964: Observations on fish under ice in winter. Ekol. Polska, A, 12 (16): 305 – 312 s.

Lin Hao Ren, G. V. D, Kraak, J. Y., Liang, C., Peng, G. Y., Li, L. Y., Lu, X. Y., Zhou, M. L., Chang, J. P., Peter, R. E., 1986: The effects of LH-RH analogue and drugs with block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China. In: Aquaculture of Cyprinids (eds. Billard, R., Marcel, J.). INRA, Paris, 139-150 s.

Linard, B., Anglade, I., Bennais, S., Sallbert, G., Navas, J. M., Baihanche, T., Pakdel, F., Jego, P., Valotaire, Y., Saligaut, C., Kah, O., 1995: Some insights into sex steroid feedback mechanisms in the trout. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Goetz, F.W., Thomas, P.), Fish Symp 95, Austin, 49-51 s.

Linhart, O., 1984: Hodnocení spermatu štiky obecné a sumce velkého. Bul. VÚRH Vodňany, 20 (2): 20-34 s.

Linhart, O., 1997a: Umělé osemenění a revidovaný způsob umělého výtěru u sumce velkého, *Silurus glanis* L. Bul. VÚRH Vodňany, 33(3): 176-188 s.

Linhart, O., Billard, R., 1995a: Survival of ovulated oocytes and ova in the European catfish (*Silurus glanis*) after in vivo and in vitro storage or exposure to various solutions. Aquat. Living Resour. 8, 317–322 s.

Linhart O., Billard R., Kouřil J., Hamáčková J. 1997b: Artificial insemination and gamete management in European catfish *Silurus glanis* L. Polish Arch. Hydro - biol., 44, 9–23 s.

Linhart, O., Billard, R., Proteau, J.P., 1993: Cryopreservation of European catfish (*Silurus glanis* L.) spermatozoa. Aquaculture, 115: 347-359 s.

Linhart, O., Flajšhans, M., 1995b: Triploidisation of European catfish (*Silurus glanis* L.) by heat shock. Aquaculture Research, 26: 367-370 s.

Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2001: Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker. Edice Metodik, VÚRH Vodňany, č.70, 10 s.

Maitland, P. S., 1972: A key to the freshwater fishes of the British Isles with notes on their distribution and ecology. Freshw. Biol. Assoc. Sci. Publ., No 27, 135 s.

Mareš, J., 2007: Http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok_prednasky/Mare%C5%A1/Odchov_ranych_stadii.pdf.

Marking, L. L., Meyer, F. P., 1985: Are better fish anaesthects needed in fisheries, 10 (6): 2-5 s.

Matty, A . J., 1985: Fish Endocrinology. Timber Press, Portland, Oregon, USA.

Mihálik, J., 1957: Naše poznatky s chovom sumca v rybníkoch. Živoč. Výroba, 2 (5): 397-404 s.

Mihálik, J., 1968: Sumec. SZN, Praha, 132 s.

Mikodina, E. V., Navolockij, V. A., Kouřil, J., Hamáčková, J., Mikulin, A. E., Barth, T., Pospíšek, J., 1997: Iskusstvennoje razmnoženije samok karpa s pomoščju sovmestnogo vvedenija analogov GnRH i betadopaminergnogo ingibitora isofloxythepina. In: Tezisy Pervyj kongress ichtyologov Rossiji, Astrachaň, VNIRO Moskva, 288 s.

Motloch, N. N., 2006: Iskustvennoje vosproizvodstvo ryb s prinimanijem Nerestina. Rybovodstvo i rybnoje chozjajstvo, 9: 26-33 s.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., 1998: Harperova biochemie. Jihočany, H&H, 568-583 s.

Oliva O., Balon E., 1968: Survey of the results of the Czechoslovak ichtyology and herpetology in the last 23 years (1945-1967). St. Knihovna ČSSR, Novinky literatury, ř. Biol., Bibliografie čs. ichtyol. a herpetol. literatury, 1968 (3-4), 65 – 69 s.

Pankhurst, N. W., 1987: In vitro steroid production by isoleted ovarian follicles of the stripped trumpter. J. Fish. Biol., 51:669-685 s.

Pankhurst, N. W., 1994: Effect of gonadotropin releasing hormone analogue, human chorionic gonadotropin and gonadal steroids on milt volume in the New Zealand snapper *Pargus auratus* (*Sparidae*). Aquaculture, 125:185-197 s.

Pankhurst, N. W., 1995: Hormones and reproductive behavoir in male damselfish. Bull. Marin.Sci., 57: 569-581 s.

Pankhurst, N. W., 1998: Reproduction. In: Biology of farmed fish (ed. Black, K. D, Pickering, A. D). Academy Press, Sheffield, 1-26 s.

Pankhurst, N. W., Carragher, J. F., 1991: Seasonal endocrine cycles in marine teleosts. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Scott, A. P., Sumpter, J. P., Kime, D. E., Rolfe, M. S.), FishSymp. 91, Sheffield, 131-135 s.

Proteau, J.P., Schlumberger, O., Albiges, C., 1994: A new technique to remove the stickiness of European catfish, *Silurus glanis* eggs. In: Legendre, M., Proteau, J.P. (eds.). Int. Workshop on the Biological Bases for Aquaculture of Siluriformes. Montpelier, BASIL, p. 48 s.

Putschögl, V., 1983: Chov sumce velkého v rybnících. Veter. péče v chovech ryb; Sb. doplňkových druhů ryb. Č. Budějovice, 64-74 s.

Richter, C. J. J., Rothuis, A. J., Ending, E. H., Oyen, F. G. F., van Gellecum, J. F. B., Strijbos, C., Verbon, F. J., Gielen, I. T., 1987: Ovarian and body response of the African catfish *Clarias gariepinus* to human choriogonic gonadotropin (Chorulon R) and carp pituitary suspension, used in a bioassay for estimating the gonadotropic activity of a crude carp powder preparation. Aquaculture, 62:53-66 s.

Ross, L. G., Ross, B., 1999: Anaesthetic and Sedative technques for aquatic animals. Institute of aquaculture University of Stirling, 58-155 s.

Saad, A., Billard, R., 1995: Production et gestion des spermatozoïdes chez le poisson-chat européen Silurus glanis. Aquat. Living Resour. 8, 323–328 s.

Sabanejev, L. P., 1892 (1911): Ryby Rossii. Toto vydání je citováno např. Bergem (1933), 3. vyd. 1911 se stejným názvem. Moskva, 1062 s. (srv. Berg 1949: 1301; bývá též citováno a podle něho bylo vydáno v r. 1960 a 1976 6. vydání pod názvem „Žizn“ i lovlja presnovodnych ryb“ v Kijevě, s dotiskem v r. 1980-667 s.).

Sedlár J., Žitňan R., 1977: Sumec. Vyd. Príroda, Bratislava, 167 s.

Siebold, C. T. E., 1863: Die Süsswasserfische von Mitteleuropa. W.Engelmann, Leipzig, 430 s.

Soto, C. G., Burhanuddin, S., 1995: Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight or rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquaculture, 136: 149-152 s.

Specker, J. L., Sullivan, C. V., 1994: Vitellogenesis in fishes: Status and perspectives. In: Perspectives in Comparative Endocrinology (eds. Davey, K. G., Peter, E. E., Tobe, S. S.), Nat. Res. Counc. Can., Ottawa, 304-315 s.

Stacey, N. E., Cardwel, J. R., 1995: Hormones as sex pheromones in fish: Widespread distribution among freshwater species. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Goetz, F. W., Thomas, P.), Fish Symp. 95, Austin, 244-248 s.

Summerfelt, R. C., Smith, L. S., 1990: Anaesthesia sugery and related techniques. In: C. B. Schreck, P. B. Moyle (ed.) Methods for fish biologi. Am. Fish. Soc., Bethesda, Maryland, 213-275 s.

Svoboda, M., Kolářová, J., 1999: Přehled anestetik používaných v chovech ryb. In: Ochrana zdraví akvarijních ryb. VÚRH JU Vodňany, 49-72 s.

Swanson, P., 1991: Salmon gonadotropins: reconciling old and new ideas. In: Reproductive Fysiology of Fish, FishSymp 91, Sheffield, 2-7 s.

Šimek, Z., 1959: Ryby našich vod. Nakl. Orbis, Praha, 142 s., 110 s.

Šusta, J., 1884 (1937): Výživa kapra a jeho družiny rybničné. Nezměněný otisk k vydání z r. 1884, vydaný Čs. akad. zeměděl. (1937), s poznámkami B. Dvořáka a K. Schäferny, 224 s.

Tamás, G., Horváth, L., 1984: Propagation and intensive larval rearing of common carp and asian herbivorous fishes and tench. In: Halver, J.E. (ed.): Special method in pond fish husbandry. Seattle, Halver Corporation, 54 s.

The polypeptide group., 1976: The stimulatory effect of a synthetic analogue of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone (LRH) on spawning in „domestic fishes“. Acta Biochim.Biophys. Sinica, 107- 114 s.

Thomas, P., 1994: Hormonal control of final oocyte maturation in scianid fishes. In: Perspectives in Comparative Endocrinogy (ed. Davey, K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S.), Nat. Res. Counc. Can., 619-625 s.

Trebiatowski, R., Stepanowska, K., Siwicki, A. K., Kazuń, K., 1996: Badania nad przydatnoscia preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego suma europejskiego. Komunikaty Rybackie (Olsztyn), 14-18 s.

Trudeau, V. L., Sloley, B. D., Wong, A. O. L., Peter, R. E., 1991: Mechanisms of sex steroid negative and positive feedback control of gonadotropin (GtH)

secretion in teleosts. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Scott, A. P., Sumpter, J. P., Kime, D. E., Rolfe, M. S.), Fish Symp 91, Sheffield, 224-226 s.

Tyler, C. R., Sumpter, J. P., Whittames, P. R., 1990: The dynamics of oocyte growth during vitellogenesis in the rainbow trout *Oncornychus mykiss*. Biology of Re- production, 43:202-209 s.

Van der Kraak, G., 1983: Effects of LH-RH and des-Gly10(D-Ala)LH-RH ethylamide on plasma gonadotropin levels and oocyte maturation in adult females coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Gen. Comp. Endocrinol., 49: 470-476 s.

Vasiliu, G., Popescu, F., 1943: Untersuchungen über die Biologie der natürlinchen Ernährung des Welses (*Silurus glanis*) aus den Gewässern Rumäniens. Anal. Inst. Cerc. Piscicol., 1943 (2): 31-122 s.

Vladykov, V., 1931: Les poissons de la Russie Sous-Carpathique (Tchécoslovaquie). Mém. Soc. Zool. France, 29 (4): 217-374 s.

Von Ihering, R., 1937: A method for inducting fish to spawn. Prog.Fish-Cult., 34: 15-16 s.

Wagner E., Arudt R., Hilton B., 2002: Physiological stress responses, egg surival and sperm mobility for rainbow trout broodstock anesthtized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. Aquaculture, 211: 353 -366 s.

Warren, R. G., 1983: Small Animal Anaesthesia. Mosbby. St Louis.: 367 s.

Woynarovich, E., 1992: Induction of ovulation using different GtH (GnH). In: Proc. Fish reproduction 92, Vodňany, VÚRH, 10-20 s.

Yaron, Z., 1995: Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. Aquaculture, 129: 49-73 s.

Yaron, Z., Sivan, B., Drori S. & Z. Ulikovski, 2002: Spawning induction in cyprinids: Hypophyseal and hypothalamic approaches. Bull. VURH Vodnany, 2: 62-74 s.

8. Přílohy

PŘÍLOHA A - Hormonálně indukovaný umělý výtěr

Přípravek (dávka)	Hmotnost ♀ (g)	Interval latence		Plodnost jikernaček				Průměr. hm. 1 jikry s ovariální t. (mg)	Pozn.
		(h)	(h°)	hm. jiker (g)	RHVJ (%)	relat. (ks/kg)	absolut. (ks)		
Dagin 10 µg.kg-1	14240	39,75	806	1412	9,92	13603	193713	7,29	
	12880								bez. ovul .
	11480	40	811	1185	10,32	12543	143992	8,23	
	13660	41,75	847	1121	8,21	12232	167087	6,71	

Tab. A1: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru sumce velkého – čtvrtý pokus.

Přípravek (dávka)	Hmotnost ♀ (g)	Interval latence		Plodnost jikernaček				Průměr. hm. 1 jikry s ovariální t. (mg)	Pozn.
		(h)	(h°)	hm. jiker (g)	RHVJ (%)	relat. (ks/kg)	absolut. (ks)		
Dagin 10 µg.kg-1	15100	39,75	799	1456	9,64	12924	195158	7,46	
	16500	43,25	869	869	5,27	8275	136534	6,36	
	7000								bez. ovul.
	10580	41,25	829	1250	11,82	20327	215064	5,81	
	7420								bez. ovul.

Tab. A2: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru sumce velkého – pátý pokus.

Přípravek (dávka)	Hmotnost ♀ (g)	Interval latence		Plodnost jikernaček				Průměr. hm. 1 jikry s ovariální t. (mg)	Pozn.
		(h)	(h°)	hm. jiker (g)	RHVJ (%)	relat. (ks/kg)	absolut. (ks)		
Dagin 10 µg.kg-1	6960								bez. ovul.
	5120	27,25	690	140	2,73	6068	31068	4,51	
	5280	27,15	687	289	5,47	11660	61563	4,69	
	6100	27	683	117	1,92	4212	25695	4,55	
	7000	28,2	714	460	6,52	13441	94084	4,89	
	8520								bez. ovul.

Tab. A3: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru sumce velkého – šestý pokus.

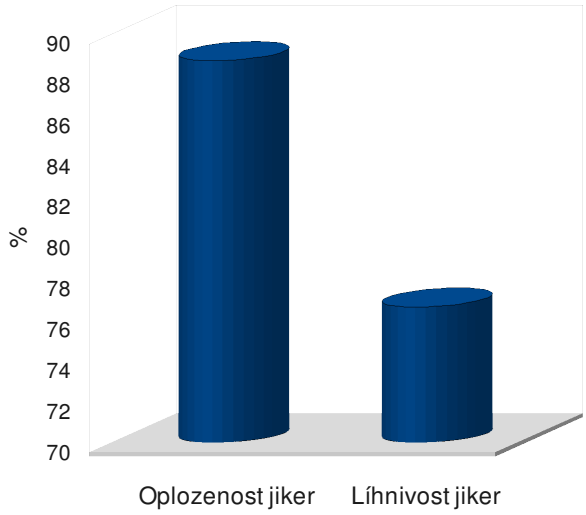
PŘÍLOHA B – Zkoušky oplozenosti a líhnivosti jiker

Datum	Poznámka	Jednotlivé skupiny - jikry (ks)								
		A6V2	B6V2	C6V2	A3V2	B3V2	C3V2	A4V2	B4V2	C4V2
23.6.2006	Výtěr inkubace									
23.6.2006	Nasazeno	50	50	50	50	50	50	50	50	50
24.6.2006	Odběr odumřelé, výměna vody	4	3	2	7	8	7	1	1	1
26.6.2006	Odběr odumřelé, výměna vody	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28.6.2006	Odběr odumřelé	4	4	4	8	6	6	4	4	3
	Vylíhnuto celkem	42	43	44	35	36	37	45	45	46
Oplozenost (%)		**92**	**94**	**96**	**86**	**84**	**86**	**98**	**98**	**98**
Líhnivost (%)		**84**	**86**	**88**	**70**	**72**	**74**	**90**	**90**	**92**

Tab. B1: Výsledky zkoušky oplozenosti a líhnivosti jiker sumce velkého – pátý pokus .

Datum	Poznámka	Jednotlivé skupiny - jikry (ks)								
		A4V	B4V	C4V	A6V	B6V	C6V	A7V	B7V	C7V
21.6.2006	Výtěr inkubace									
21.6.2006	Nasazeno	50	50	50	50	50	50	50	50	50
22.6.2006	Odběr odumřelé, výměna vody	2	5	3	21	20	20	2	2	0
24.6.2006	Odběr odumřelé, výměna vody	1	5	1	2	1	1	0	3	1
26.6.2006	Odběr odumřelé	3	4	1	4	4	3	4	7	2
	Vylíhnuto celkem	44	36	45	23	25	26	44	38	47
Oplozenost (%)		**96**	**90**	**94**	**58**	**60**	**60**	**96**	**96**	**100**
Líhnivost (%)		**88**	**72**	**90**	**46**	**50**	**52**	**88**	**76**	**94**

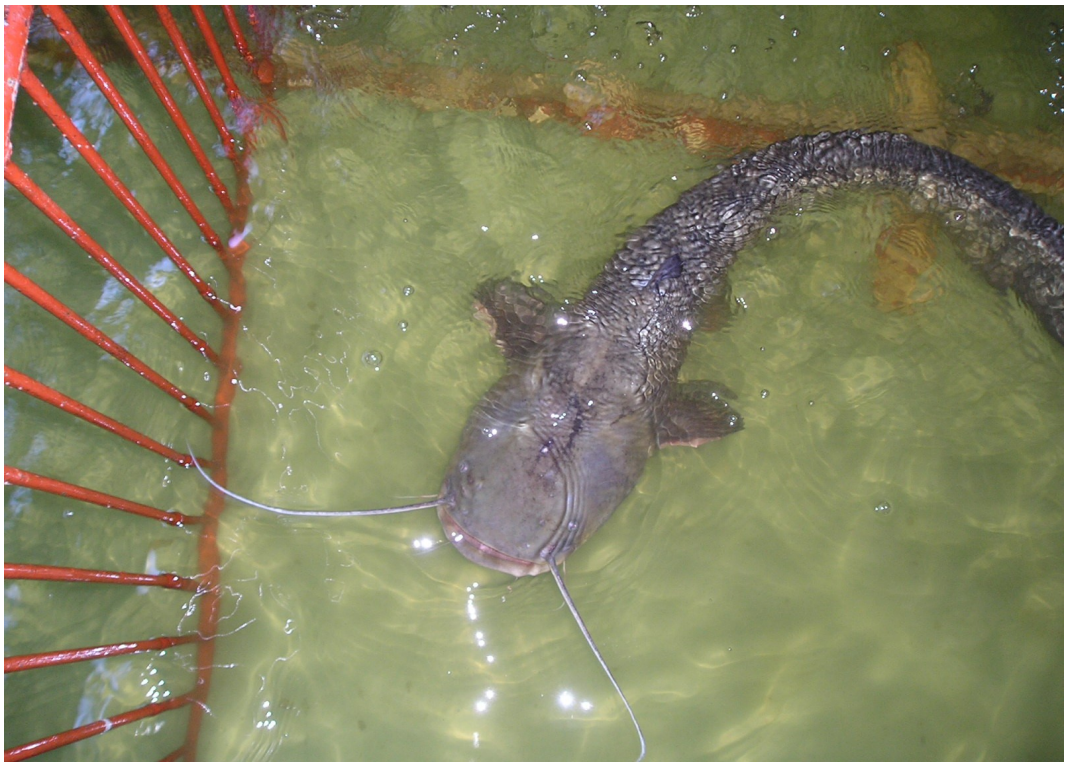
Tab. B2: Výsledky zkoušky oplozenosti a líhnivosti jiker sumce velkého – šestý pokus .



Obr. B1: Oplozenost a líhnivost jiker. Průměrné hodnoty ze všech pokusů.

PŘÍLOHA C - Obrázková dokumentace

Obr. C1: Celkový pohled na nádrže s generačními rybami.



Obr. C2: Generační sumec v individuální sekci.

Obr. C3: Provádění anestezie.

Obr. C4: Přípravek Dagin.

Obr. C5: Srovnání velikosti břišních partií před výtěrem u jikernačky a mlíčáka sumce.

Obr. C6: Močopohlavní papila jikernačky sumce velkého.

Obr. C7: Jikernačka těsně před výtěrem.

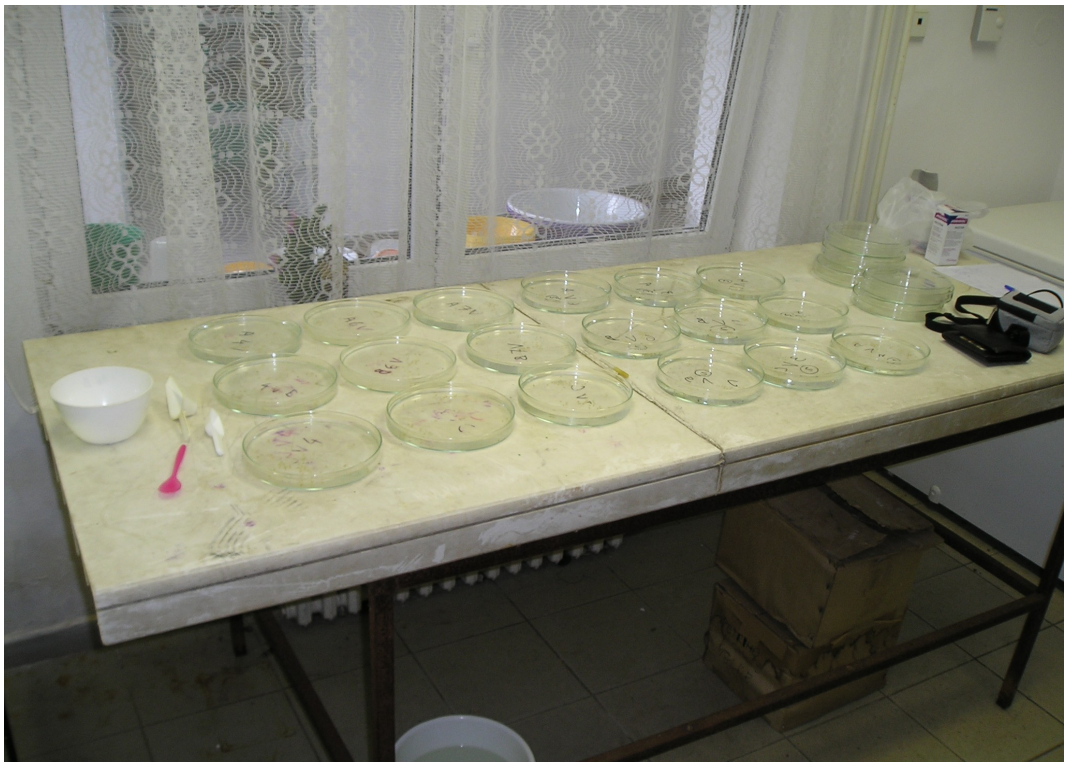
Obr. C8: Pomůcky pro umělý výtěr sumce – odlepkovací roztok, aktivační roztok atd.

Obr. C9: Umělý výtěr jikernačky sumce velkého.

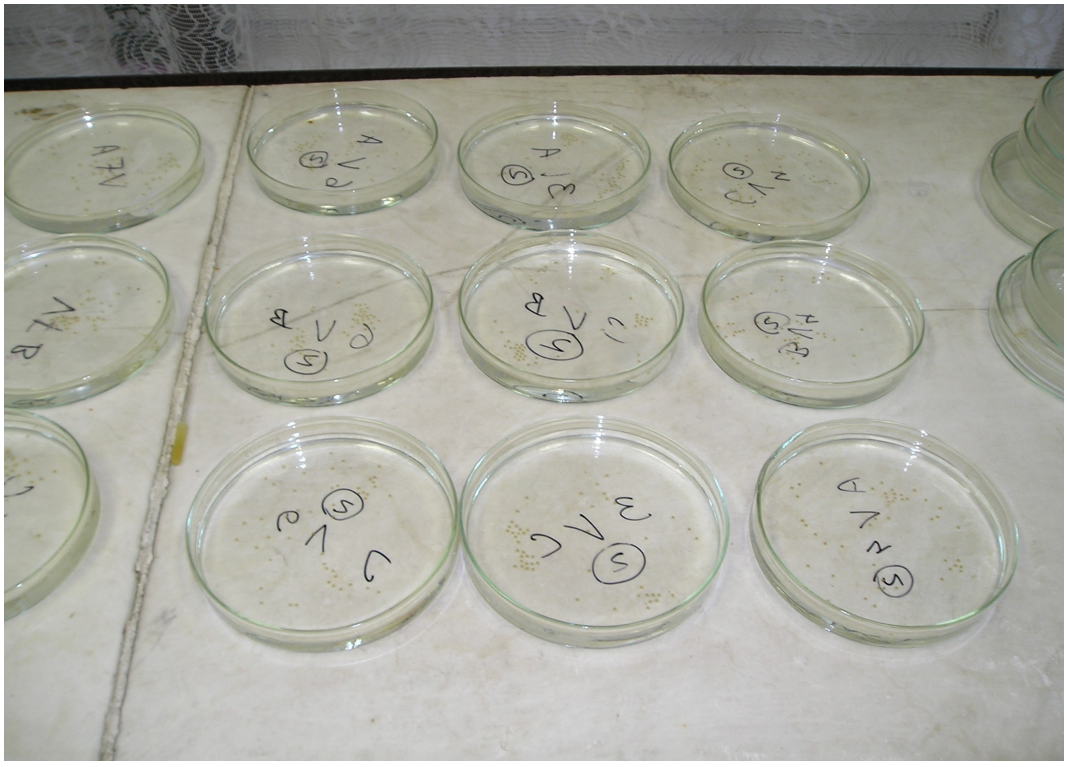
Obr. C10: Čerstvě vytřené jikry s ovariální tekutinou sumce velkého.

Obr. C11: Inkubace jiker sumce velkého v Zugských lahvích.

Obr. C12: Detail oplozených (hnědých) a odumřelých (bílých) jiker.



C13:Celkový pohled na misky s jikrami – zjišťování oplozenosti.



Obr. C14: Detailní pohled na misky s jikrami.

9. Souhrn

Cílem této diplomové práce bylo zjistit optimální způsob hormonální indukce ovulace jikernaček sumce velkého s pomocí hormonálního kombinovaného přípravku, obsahující GnRHa společně s dopaminergním inhibitorem, Dagin (izraelský preparát). Určit závislost průběhu intervalu latence na teplotě vody a ověřit jeho účinnost k indukci ovulace.

V průběhu let 2005 – 2007 bylo realizováno celkem sedm pokusů s hormonálně indukovaným umělým výtěrem sumce velkého, ke každému pokusu byla použita jiná skupina ryb. V prvním pokusu byly ryby injikovány hypofýzou (4,5 $mg.kg^{-1}$), Ovopelem (1 $pel.kg^{-1}$) a Daginem (10 $\mu g.kg^{-1}$). V dalších pokusech byl použit jen přípravek Dagin (10 $\mu g.kg^{-1}$).

Celkem bylo injikováno přípravkem Dagin 28 jikernaček sumce a z tohoto množství 22 ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno. Dosáhli jsme tedy 79% ovulace. Byla zjištěna závislost intervalu latence na teplotě vody při hormonálně indukované ovulaci jikernaček sumce velkého pomocí kombinovaného přípravku Dagin při teplotách v rozpětí 20,1 – 25,3 °C. Při použití přípravku Dagin bylo dosaženo průměrné relativní hmotnosti vytřených jiker 8,26 ± 2,92 %.

Uvedené výsledky prokazují, že hormonální přípravek Dagin obsahující funkční GnRHa a dopaminergní inhibitor je možné úspěšně používat v rybářské praxi pro hormonálně indukovaný umělý výtěr sumce velkého. Přináší uspokojivé výsledky, hlavně v ukazatelích plodnosti (relativní hmotnost vytřených jiker).

Klíčová slova: sumec velký; umělý výtěr; kapří hypofýza; Ovopel; Dagin

10. Summary

The aim of my work was to find out an optimal way of hormonal induction ovulation of female European catfish with help of combined hormonal preparation containing GnRHa together with dopamine inhibitor - Dagin. Further to get the depency of latency time of water temperature and verify its influence to ovulation.

7 tries were realized with hormonal inducing artificial stripping of European catfish during 2005-2007. Every try was provided with different groups of fish. Fish were intramuscularly injected with carp pituitary (4.5 mg.kg-1), Ovopel (1 pel.kg-1) and Dagin (10 µg.kg-1) in the first experiment.

As whole 28 catfish females were injected with Dagin and 22 of this whole ovulated and were succesfully stripped. There was nearly 79% of ovulation. There was detected depency of latency time of water temperature within hormonal induction European catfish female with help of combined Dagin preparation and temperature in interval of 20.1 – 25.3 °C. With Dagin preparation it was achieved average relative weight of stripped eggs 8.26 ± 2.92 %.

These results demostrate that hormonal preparation Dagin containing functional GnRHa and dopamine inhibitor is possible to sucessfully use in hormonal induction of artificial stripping of European catfish. There are satisfactorily results especially in fertility (relative wieght of stripped eggs).

Keywords: European catfish; artificial propagation; carp pituitary; Ovopel; Dagin.