

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury

Diplomová práce

Vliv hormonálního ošetření během umělé reprodukce na produkci plůdku piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v umělých podmínkách

Autor: Bc. Ondřej Houda

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Bořek Drozd, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Ing. Radek Gebauer

Studijní program a obor: N4103 Zootechnika, Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2015

Prohlášení

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. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne

.....

Bc. Ondřej Houda

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval svému vedoucímu diplomové práce panu RNDr. Bořku Drozdovi, Ph.D. za metodické vedení, odbornou pomoc a důležité rady při vypracování mé diplomové práce. Současně děkuji technikovi Ing. Pavlu Šablaturovi za odbornou pomoc při vlastním pokusu a obsluhu experimentálních akvárií. Dále děkuji svým rodičům za to, že mi umožnili studovat na Jihočeské univerzitě a za jejich podporu při studiu.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ondřej HOUDA**
Osobní číslo: **V13N005P**
Studijní program: **N4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybnářství**
Název tématu: **Vliv hormonálního ošetření během umělé reprodukce na produkci plůdku piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v umělých podmínkách**
Zadávací katedra: **Ústav akvakultury**

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

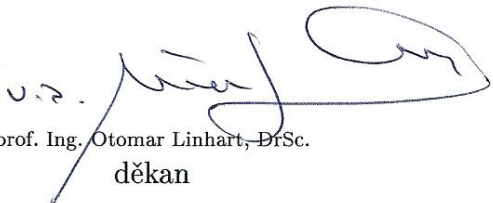
Cílovým druhem diplomové práce je piskoř pruhovaný *Misgurnus fossilis* L., tj. druh, který je v současné době považován za jeden z nejrychleji mizejících druhů ryb nejen v ČR, ale v rámci celé Evropy (jedná se o druh ze seznamu Přílohy II. v rámci sítě NATURA 2000). Piskoř se vyskytuje především ve stojatých a mírně tekoucích vodách v rámci záplavových území řek, tzn. na lokalitách podléhajících pravidelně se vyskytujícím i náhodným disturbancím vedoucím k vytvoření celkově velice nestabilního životního prostředí (především z hlediska fyzikálně-chemických vlastností vody). V minulosti tento druh patřil mezi velice hojné druhy ryb, ale pravděpodobně v souvislosti se zhoršující se kvalitou vody a přímou degradací vhodných lokalit (především vysoušení) takřka zmizel. I přes dřívější hojnost tohoto druhu na našem území je však až doposud o biologii, zejména o reprodukci tohoto druhu, známo relativně málo.

Cílem diplomové práce je tak shrnutí a porovnání dosud známých informací z oblasti reprodukce (přirozené a umělé) piskoře pruhovaného s vlastními experimentálními daty, které budou získány v rámci řešení DP. Student tak nejprve vypracuje literární rešerši na dané téma, kdy se seznámí s cílovým druhem, problematikou studia přirozené i umělé reprodukce (za pomoci stimulace ovulace/spermiace vhodnou kombinací vnějších abiotických faktorů, pomocí hormonálních přípravků, atd.) a produkce plůdku u zkoumaného druhu a u ryb jako celku (hlavně u blízkých příbuzných druhů ryb - čeleď Cobitidae). Experimentální část diplomové práce bude probíhat na Ústavu Akvakultury v Českých Budějovicích. Student bude mít za úkol ověřit možnost využití komerčně dostupných hormonálních preparátů použitých při řízené reprodukci na produkci plůdku cílového druhu. Zaměří se na studium vlivu použitého hormonálního preparátu a jeho dávky na množství a kvalitu získaného potomstva (vč. zhodnocení líhnivosti, přežívání během raných stádií, morfometrických ukazatelů - objem žloutkového vaku, délka těla a mokrá/suchá hmotnost, podílu jednotlivých makrobiogenních prvků a energetické kompozice těl). Získané výsledky pak student dále vyhodnotí pomocí počítačového SW (Statistica, Image Analysis, MS Office) a srovná s informacemi z dostupné literatury.


Výsledky získané v rámci DP budou dále využity při přípravě certifikované technologie, která přispěje k posílení snahy o vytvoření efektivního managementu (díky návrhu metod řízené reprodukce tohoto druhu) ochrany piskoře pruhovaného směřujícího k posílení populací tohoto druhu na území ČR.

Rozsah grafických prací: **15 - 50 tabulek a grafů**
Rozsah pracovní zprávy: **40 - 80 stran**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury: **viz příloha**

Vedoucí diplomové práce: **RNDr. Bořek Drozd, Ph.D.**
Ústav akvakultury
Konzultant diplomové práce: **Ing. Radek Gebauer**
Datum zadání diplomové práce: **14. února 2014**
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2015**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

L.S.


Ing. Jan Mráz, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2014

Příloha zadání diplomové práce

Seznam odborné literatury:

- Adamková-Stibranyiová, I., Adámek, Z., Šutovský, I., 1999. A comparative study on the induced spawning in female loach (*Misgurnus fossilis*) by means of single and double pituitary injection technique. *Czech Journal of Animal Science*, 44: 403-407 s.
- Baruš, V., Oliva, O. (eds.), 1995. *Mihulovci (Petromyzontes) a Ryby (Osteichthyes) (2)*, Fauna ČR a SR, Academia, Nakladatelství AVČR, 693 s.
- Bauch, G., 1953. *Die einheimischen Süßwasserfische*. Neumann Verlag, 1. vydání, Berlin, 187 s.
- Bohl, E., 1993. Rundmäuler und Fische im Sediment. Ökologische Untersuchungen an Bachneuenauge, Schlammpeitzger und Steinbeisser. *Berichte der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung*, 129 s.
- Drozd, B. 2011. Study of selected population parameters of weatherfish *Misgurnus fossilis* (Cypriniformes, Cobitidae): early life history and status of ploidy in fish from Lužnice River floodplain area. Ph.D. thesis. University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters. 122 s.
- Geldhauser, F., 1992. Die kontrollierte Vermehrung des Schlammpeitzgers (*Misgurnus fossilis* L.). *Fischer und Teichwirtschaft*, 43 (1): 2-6 s.
- Grieb, A., W., 1937. Die larvale Periode in der Entwicklung des Schlammbeissers (*Misgurnus fossilis* L., Cobitidae Cyprinoidea). *Acta Zoologica*, 18: 1-6 s.
- Hliwa, P., Krejszeff, S., Król, J., Gomużka, P., 2010. Pozasezonowy kontrolowany rozród piskorza (*Misgurnus fossilis*) z zastosowaniem Ovopelu. In: Zakes, Z., Demsky-Zakes, K., Kowalska, A., (Eds.): *Rozród, podchów, profilaktyka ryb rzadkich i chronionych oraz innych gatunków*. Instytut Rybactwa Śródlądowego, Olsztyn, 45-54 s.
- Kamler, E., 1992. Early life history of fish: An energetics approach. *Fish and Fisheries Series 4*, London: Chapman & Hall, 267 s.
- Klupp, R., Popp, M., 1992. Erzeugung von Schlammpeitzgern in Karpfenteichen. *Fischer und Teichwirtschaft*, 43 (1): 6-7 s.
- Kotlyarevskaja, N., V., 1967. Hatching periods in the groundling (*Misgurnus fossilis* L.) in relation to oxygen regime. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 177 (5): 1245-1248 s.
- Kostomarova, A. A., 1975. Weatherfish *Mishurnus fossilis* L. In: Astaurov, B. L. (ed.): *Objekty biologiji razvitija*, Nauka, Moskva, s. 308-323 s.
- Kouřil, J., 2002. Metody řízení reprodukce ryb. In: Vykusová, B. (ed.): *Sborník "Produkce násadového materiálu ryb a raků"* (2.-3.5.2002, Vodňany). Vodňany, VÚRH JU, 152 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Adámek, Z., Sukop, I., Vachta, R., 1996. The artificial propagation and culture of young weatherfish (*Misgurnus fossilis* L.). In: Kirchhofer, A., Hefti, D. (eds.): *Conservation of Endangere Freshwater Fish in Europe*, Birkhäuser Verlag, Basel, s. 305-310 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Barth, T., 2006. Hormonálně indukovaná umělá reprodukce ryb. *Biotechnology 2006*, Scientific Pedagogical Publishing, České Budějovice, Czech republic, s. 251-253 s.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Polícar, T., Kříšťan, J., Drozd, B., 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízení reprodukci vybraných hospodářsky významných a teplomilných druhů ryb. *Edice metodik pro praxi (certifikovaná metodika)*, JU v Českých Budějovicích, FROV Vodňany, č. 120, 34 s.

- Lei, F., Wang, B., 1990. Studies on reproduction and growth of loach. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 14 (1): 60-67 s.
- Peňáz, M., 2001. A general framework of fish ontogeny: a review of the ongoing debate. *Folia Zoologica*, 50: 241-256 s.
- Suzuki, R., 1983. Multiple spawning of the cyprinid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture*, 31 (2-4): 233-243 s.
- Šusta, J., 1937. Výživa kapra a jeho družiny rybníčné, 224 s.

OBSAH:

1. ÚVOD.....	10
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1. PISKOŘ PRUHOVANÝ (<i>Misgurnus fossilis</i>, Linnaeus 1758)	11
2.1.1. Taxonomické zařazení.....	11
2.1.2. Charakteristika druhu	11
2.1.2.1. Výsky	11
2.1.2.2. Morfologie a biologie.....	12
2.1.2.3. Potrava a růst.....	13
2.1.2.4. Reprodukce.....	14
2.1.2.5. Význam a ochrana.....	15
2.2. ŘÍZENÁ REPRODUKCE RYB.....	15
2.2.1. Indukce ovulace a spermiace	17
2.2.2. Hormonální přípravky	19
2.2.2.1. Hypofýza.....	19
2.2.2.2. Chorulon.	20
2.2.2.3. Ovopel.	20
2.2.2.4. Dagin.....	21
2.2.2.5. Supergestran	21
2.3. HORMONÁLNĚ ŘÍZENÁ REPRODUKCE PISKOŘE PRUHOVANÉHO.....	21
2.4. VLIV HORMONÁLNÍ INDUKCE NA LÍHNIVOST A KVALITU PLŮDKU	22
3. CÍL PRÁCE.....	24
4. METODIKA.....	25
4.1. CHARAKTERISTIKA POKUSU.....	25
4.1.1. Příprava generačních ryb před výtěrem.....	26
4.1.2. Výtěr generačních ryb	27
4.1.3. Experimentální odchov.....	27
4.1.4. Odběr vzorků.	28
4.2. POPIS RECIRKULAČNÍHO AKVAKULTURNÍHO SYSTÉMU.....	28
4.2.1. Odchovné akvárium	31
4.2.1.1. Výměna vody v akváriu	31
4.3. HODNOTÍCÍ UKAZATELE	32
4.3.1. Líhnivost larev	32
4.3.2. Životoschopnost (přežívání) larev	32
4.3.3. Morfometrie larev.....	33
4.3.3.1. Objem žloutkového váčku.....	33

4.3.4. Gravimetrie larev	33
4.3.5. Prvková a energetická analýza	34
4.4. FYZIKÁLNĚ - CHEMICKÉ VLASTNOSTI VODY	34
4.4.1. Teplota	34
4.4.2. pH	35
4.4.3. Obsah rozpuštěného kyslíku.....	36
5. VÝSLEDKY	38
5.1. LÍHNIVOST LAREV	38
5.2. PŘEŽÍVÁNÍ LAREV PO VYKULENÍ.....	39
5.3. CELKOVÉ PŘEŽÍVÁNÍ LAREV OD NASAZENÍ JIKER DO KONCE POKUSU.....	39
5.4. MORFOMETRIE LAREV.....	40
5.4.1. Růst larev.....	40
5.4.2. Objem žloutkového váčku.....	41
5.5. GRAVIMETRIE LAREV.....	42
5.5.1. Individuální mokrá hmotnost larev	42
5.5.2. Individuální suchá hmotnost larev.	43
5.6. ENERGETICKÁ A PRVKOVÁ ANALÝZA	44
6. DISKUZE	47
7. ZÁVĚR	51
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	52
9. PŘÍLOHY.....	57
10. ABSTRAKT	65
11. ABSTRACT.....	66

1. ÚVOD

V posledních letech došlo k značnému snížení abundance piskoře pruhovaného na území ČR. Hlavní příčinou tohoto děje je především ztráta jejich přirozených lokalit výskytu spojená ve velmi častých případech s neuváženým zásahem člověka do krajiny. V minulosti docházelo především k vysoušení mokřadů, zazemňování tůní a starých říčních ramen, regulaci vodních toků a nešetrnému odbagrování sedimentů či prohlubování vodních toků. Takto upravené lokality se staly pro život piskořů nevyhovující a tím jeho početnost značně klesla (Gerstmeier a Romig, 2003).

Pro znovuobnovení početnosti piskoře pruhovaného je nejen nutná obnova jeho přirozených lokalit výskytu, ale také i dostatek kvalitního násadového materiálu, který by vzniklé lokality obsadil. Nejpoužívanější a nejspolehlivější metodou pro získání dostatečného množství kvalitního životaschopného plůdku je umělá reprodukce s využitím hormonální stimulace ovulace a spermiace s následnou inkubací jiker a odchovem larev v umělých podmínkách. Larvy je možné odchovávat do optimální velikosti a následně je vysadit do přirozených lokalit a minimalizovat tím ztráty v první fázi životního cyklu.

Cílem diplomové práce je posoudit vhodnost použití vybraných komerčně produkovaných hormonálních přípravků během řízené reprodukce při produkci plůdku piskoře pruhovaného v umělých podmínkách s cílem nalezení vhodného efektivního alternativního způsobu umělé reprodukce nahrazujícího současnou praxi využívající aplikaci homogenátu kapří hypofýzy.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. PISKOŘ PRUHOVANÝ (*Misgurnus fossilis*, Linnaeus 1758)

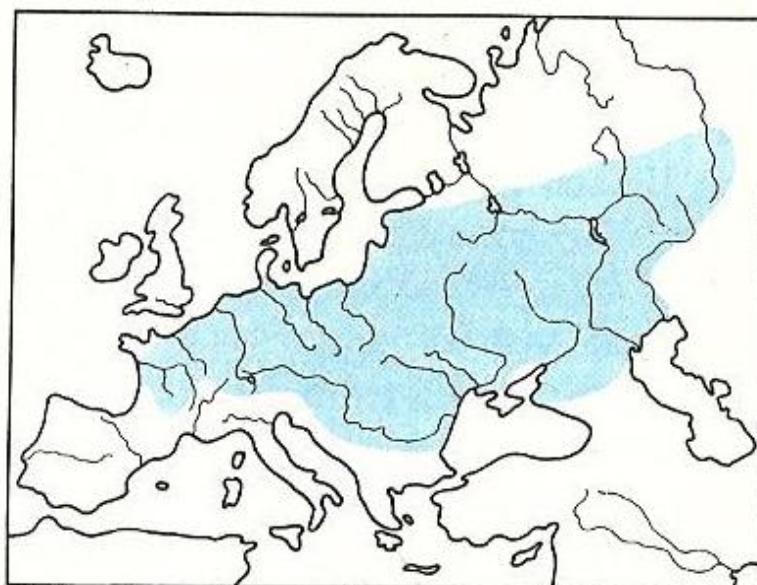
2.1.1. Taxonomické zařazení

Piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*, Linnaeus 1758) je z taxonomického hlediska zařazen do třídy paprskoploutví (Actinopterygii), podtřídy kostnatí (Neopterygii), řádu máloostní (Cypriniformes), čeledi sekavcovití (Cobitidae) a rodu Piskoř (*Misgurnus*) (Kottelat a Freyhof, 2007).

2.1.2. Charakteristika druhu

2.1.2.1. Výskyt

Původní areál rozšíření piskoře pruhovaného se nachází od severní Francie přes střední a východní Evropu a pokračuje až k povodí Dunaje a Volhy (Kůs, 1999; Kottelat a Freyhof, 2007). Úplná absence výskytu zmiňovaného druhu je prokázána ve Skandinávii, na Britských ostrovech a ve Středomoří (Gerstmeier a Romig, 2003). V České republice i Evropě je pouze jediným žijícím zástupcem rodu Piskoř (Pokorný a kol., 2004).



Obr. 1: Mapa rozšíření piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) (podle Müller, 1987).

Jedinci obývají převážně mělké a teplé stojaté vody v nížinatých oblastech, vyskytují se i v tekoucích vodách s rychlostí proudění do $0,1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ (Meyer a Hinrichs, 2000). Nejčastější oblastí výskytu jsou zabahněné tůňe, stará říční ramena, vodní příkopy se silným zárostem vodní plochy v oblastech okolí řek, kde dochází vlivem každoročních jarních záplav k přinášení živného substrátu, který slouží jako přirozená potrava pro zmiňovaný druh (Dyk, 1959; Gerstmeier a Romig, 2003).

Juvenilové preferují spíše mělké partie s hloubkou do 0,1 metru na rozdíl od adultních jedinců, kteří vyhledávají hlubší partie o hloubce 0,73 metru a více. Z hlediska preference vodních makrofyt, mladí i dospělí jedinci dávají přednost úsekům zarostlým vodním morem kanadským s malým podílem rákosu na rozdíl od rozsáhlých rákosových zón. Optimální mocnost sedimentů dna je pro piskoře pruhovaného 0,1 metru a více, vyhýbá se sedimentům, které obsahují vyšší podíl kořenů, hrubé sutě nebo písku. Ty mu znemožňují zavrtání do sedimentů (Meyer a Hinrichs, 2000).

V malých nádržích s vysokým zárostem vegetace bez přirozených rybožravých predátorů může tento druh vytvářet početné populace (Baruš a Oliva, 1995).

Příbuzným druhem piskoře pruhovaného je piskoř dálnovýchodní (*Misgurnus anguillicaudatus*, Candor, 1824) patřící též do čeledi sekavcovití (Cobitidae) s areálem rozšířením na území Ruska, Japonska, Číny, Vietnamu a Barmy (Berg, 1962). Obývá jak lentické tak lotické vody. Ve své domovině je řazen mezi převládající druhy ryb žijících v rýžových polích, kde pozitivně působí na vyrývání plevele (Kim et al., 1994). Tento druh má porcový (dávkový) výtěr, v období od poloviny května až do srpna migruje z řek do rýžových polí, kde se vytírá (Fujimoto et al, 2008). Individuální plodnost piskoře dálnovýchodního o celkové délce 12 – 20 cm se pohybuje v rozsahu 10 000 – 24 000 jiker o průměru 1,2 až 1,5 mm (Liu, 2008).

2.1.2.2. Morfologie a biologie

Tělo piskoře pruhovaného je výrazně protáhlé, válcovité, v zadní polovině ze stran zploštělé pokryté malými šupinami (Hanel, 1992). Zbarvení pokožky těla je nejčastěji tmavě hnědé s drobnými skvrnami. Boky a břicho jsou nažloutlé nebo načervenalé. Na bocích těla se táhne od oka až po konec ocasního násadce tmavý pás, který je lemovaný úzkými červenými proužky. Zbarvení ploutví je žlutohnědé s drobnými černými skvrnami (Hanel a Lusk, 2005). Míra sytosti zbarvení je určována prostředím (Pokorný a kol., 2004).

Hlava je ve srovnání s tělem velmi malá, zakončená též relativně malými ústy se spodním postavením (Gerstmeier a Romig, 2003). Ústní otvor obklopuje deset krátkých smyslových vousků (Kůs, 1999). Na horním okraji úst se nacházejí čtyři vousky, další dva jsou situovány v koutcích a poslední čtyři jsou na dolním pysku (Lusk a kol., 1992).

Hřbetní ploutev je velmi krátká, složená z 2 až 4 tvrdých a 5 až 7 měkkých paprsků (Hanel, 1992), umístěná na stejné úrovni jako ploutve břišní. Řitní ploutev tvoří 3 až 4 tvrdé a 5 až 6 měkkých paprsků, ocasní ploutev je zaokrouhlená (Baruš a Oliva, 1995). Počet šupin v postranní čáře se pohybuje v rozmezí 135 až 175 (Hanel, 1992).

Piskoři jsou řazeni mezi velmi odolné jedince ve vztahu k nasycenosti vody kyslíkem. Využívají pomocný systém dýchání. Polykají bublinky vzduchu, které projdou přes stěnu střeva jako malé molekuly do krevního řečiště, tento způsob dýchání je označován jako střevní dýchání (Dyk, 1959).

Jedinci se vyznačují výraznou soumračnou aktivitou (Müller, 1987), obývají převážně dnovou část ekosystému s velkým množstvím sedimentů a organických zbytků, do kterých se zavrtávají (Lusk a kol., 1992). Obvykle pronikají 200 až 300 mm hluboko do substrátu dna, v ojedinělých případech až do 700 mm, kde jsou schopni přežít nepříznivé období jako je v našich podmínkách zima nebo i nedostatek vody (Kottelat a Freyhof, 2007). Délka života piskoře se pohybuje v průměru do 10 let (Pokorný a kol., 2004). Ojediněle podle autorů Gerstmeier a Romig (2003) lze v přírodě nalézt jedince o stáří 21 let.

2.1.2.3. Potrava a růst

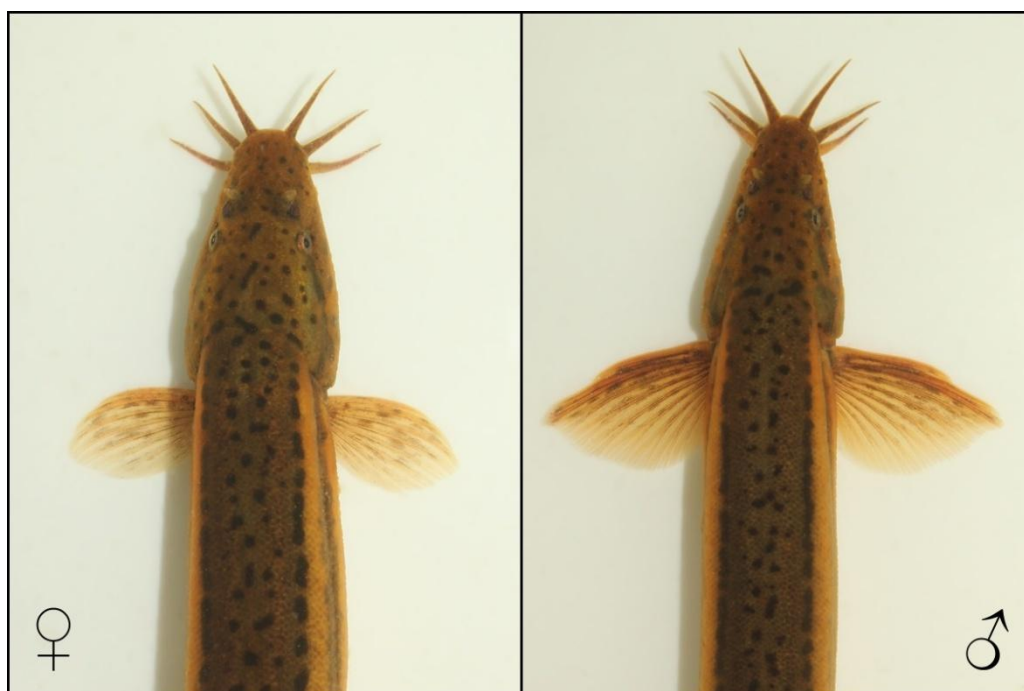
Přirozenou potravu larev piskořů tvoří převážně vířníci (*Patella sp.*) a kryténky (Drozd a Bláha, 2011). Dospělí jedinci se živí převážně drobnými vodními živočichy dna (bentos). Podle autorů Gerstmeier a Romig, (2003) to jsou zejména larvy a kukly rodu Chironomidae, dále drobní mlži a jejich raná vývojová stádia. V zajetí se piskoř živí detritem dna, hrubým zooplanktonem a larvami pakomárů (Kouřil a kol., 1996).

Piskoř pruhovaný v přirozeném prostředí dorůstá obvykle do velikosti 10 až 20 cm, ojediněle se objevují i jedinci o velikosti 30 až 35 cm dosahující hmotnosti 100 až 150 g (Dyk, 1959).

2.1.2.4. Reprodukce

Přirozený výtěr piskořů probíhá od dubna do června při teplotě vody 11 – 15 °C (Dubský a kol., 2003; Hanel, 1992) v oblastech s hustým zárostem vodní vegetace (Fusko 1987). Jikry jsou kladeny samicemi na porosty vodních rostlin a kořeny (Lusk a kol., 1992). Samice klade 5 000 – 35 000 lepivých jiker hnědé barvy (Baruš a Oliva, 1995; Bogut a kol., 2006). Inkubační doba se pohybuje v průměru 70 d° (Dubský a kol., 2003). Vylíhlé larvy mají dočasně vyvinuté vnější nitkovité žábry, pomocí nich jsou schopné absorbovat kyslík i při velmi malém nasycení vody (Gerstmeier a Romig, 2003). Pohlavně dospívají nejdříve samci, už ve druhém roce života, a o rok později samice při průměrné délce těla 110 mm (Kottelat a Freyhof, 2007). Velikost jiker se pohybuje v průměru 1,5 mm (Dyk, 1959).

Pohlavní dimorfismus je u piskoře velmi snadno rozpoznatelný. Samci se vyznačují delšími prsními ploutvemi trojúhelníkového tvaru oproti samicím, které mají tyto ploutve kratší a zaoblenější (Lusk a kol., 1992). Dalším rozpoznávacím znakem mezi samcem a samicí je šířka těla v oblasti hřbetní ploutve. Samci mají tyto partie výrazně širší (Bogut a kol., 2006). U samců je také velmi patrným rozpoznávacím znakem kožní kýl, který je vytvářen výraznějším stlačením kořene ocasu na jeho svrchní straně než na spodní (Baruš a Oliva, 1995).



Obr. 2: Pohlavní dimorfismus piskoře pruhovaného – na levé straně obrázku je zobrazena samice a na pravé samec (foto Chytrý).

2.1.2.5. Význam a ochrana

Piskoř pruhovaný není hospodářsky významný druh, je ale považován za velmi zajímavý druh z hlediska morfologie a způsobu života. V minulosti byl používán jako velmi oblíbená nástražní ryba pro lov dravců, převážně sumce velkého (Hanel a Lusk, 2005).

V současné době je piskoř pruhovaný uveden v příloze II Směrnice Rady č. 92/43/EEC, dále je zařazen mezi ohrožené druhy ve vyhlášce č. 392/1992 Sb. a také v příloze vyhlášky č. 166/2005 Sb. (Hanel a Lusk, 2005). V Červeném seznamu České republiky je zmiňovaný druh řazen do kategorie ohrožený druh (Lusk a kol., 2011).

2.2. ŘÍZENÁ REPRODUKCE RYB

Jedná se o nejpoužívanější, nejspolehlivější metodu reprodukce využívající hormonálního ošetření ryb, které zajišťuje optimální synchronizaci ovulace a spermiace. Objevení této metody umožnilo zefektivnit produkci ryb z akvakultury a to díky dostatečnému získání kvalitního životaschopného plůdku i mimo období přirozeného výtěru ryb. Klíčovou roli hraje tato metoda i při obnově a posílení populací chráněných a ohrožených druhů ryb (Gela a kol., 2009; Kouřil a kol., 2011).

Základní podmínkou je dostatek generačních ryb, které se pro tyto účely získávají jednak odchycem z přirozených lokalit nebo se chovají v pokusných rybnících. Odlovené jedince je nutné po odlovu přemístit do objektu líhně, kde jsou rozříděni podle pohlaví a umístěni do předem připravených nádrží se stejnou teplotou vody, z jaké byli odloveni. V následujících dnech se ryby temperují pomocí postupného zvyšování teploty až na optimální hodnotu, při které se vytírají v přirozených podmínkách. Pro indukci a synchronizaci ovulace a spermiace je možné použít environmentální nebo hormonální stimulaci (Gela a kol., 2009).

Environmentální stimulace je označována za nejšetrnější způsob indukující spermiaci a ovulaci ryb. Provádí se optimalizováním přirozených podmínek a to především pomocí regulace světelných podmínek, teploty vody, dále přítomností výtěrového substrátu a minimalizací stresového faktoru (Peter a Yu, 1997).

Druhou velmi účinnou stimulační metodou je již zmíněná hormonální stimulace. Aplikace hormonálního přípravku se podává injekčně intramuskulárně do hřbetní svaloviny nebo intraperitoneálně k bázi břišní ploutve. Samcům (kapr obecný -

Cyprinus carpio, Linnaeus 1758) se aplikuje pouze jedna dávka a to 24 hodin před plánovaným výtěrem. Samicím je možné aplikovat hormonální přípravek v jedné dávce s dobou latence 20 - 21 hodin (392 - 412 hodinových stupňů) nebo ve dvou dávkách. První dávka je označována jako přípravná, aplikuje se 24 hodin před výtěrem a druhá dávka (hlavní) je rybám podávána 12 hodin před plánovaným výtěrem s dobou latence 12 - 13 hodin (234 - 254 hodinových stupňů) (Adámková-Stibranyiová a kol., 1999; Gela a kol., 2009).

Pro usnadnění manipulace a zajištění co možná největší bezpečnosti generačních ryb je využívána anestezie. Nejpoužívanějším anestetikem pro ryby je 2-fenoxyetanol (etylen glykol ether) dodávaný firmou Merck s. r. o. nebo hřebíčkový olej, u kterého je účinnou látkou eugenol dodávaný firmou Dr. Kulich Pharma, s. r. o. Anestetická lázeň se připravuje do nádob například do rybářských kádí či vaniček o přesném stanoveném objemu z důvodu zachování přesného dávkování. Pro hřebíčkový olej je možné použít koncentrace až do hodnot $0,07 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ u 2-fenoxyethanolu je používána koncentrace $0,3 - 0,4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ (Gela a kol., 2009).

U hormonálně ošetřených jedinců je dále sledována připravenost k výtěru, která je zjišťována individuálně u každého jedince. Ovulující ryby (k výtěru připravené ryby) samovolně uvolňují jikry i při malém tlaku na břišní dutinu. Pro snadnější manipulaci je nutné ryby uvést do anestezie. Následně po usnutí samic se přistoupí k výtěru, ovulované jikry jsou vytírány pomocí masáže tělní dutiny do suchých misek (Gela a kol., 2009). Misky s vytřenými jikrami se překryjí tkaninou a umístí se do zastíněného místa. Vytřené samice je nutné po jejich vytření umístit do čisté kyslíkaté vody pro zajištění jejich regenerace. Osemenění jiker je možné provést dvěma způsoby. První způsob je výtěr mlíčáků přímo na jikry a druhý způsob je odběr spermatu do kontejnerů s následnou aplikací na jikry. Aktivace gamet a oplození nastává po přidání oplozovacího roztoku (v dávce na 0,5 l na 1 kg osemeněných jiker), který musí být vytemperovaný na teplotu vody, ve které byly umístěny generační ryby. Během oplození je nutné jemně jikry promíchávat (10 – 15 sekund v závislosti na druhu reprodukované ryby), aby došlo k nejlepší fázi samčích a samicích prvojader. Následně po promíchání je nutné nechat jikry 30 - 45 sekund v klidu a po uplynutí časového intervalu začít u ryb s lepivými jikrami s odlepkováním. Jedná se o proces, který mechanickým nebo chemickým způsobem eliminuje lepivost jiker a následně tak zamezuje jejich slepení, které by znemožnilo jejich inkubaci v umělých podmínkách (Gela a kol., 2009). Nejrozšířenějším odlepkovacím prostředkem je suspenze

plnotučného mléka a vody v poměru 1 : 9 nebo sušeného mléka a vody s poměrem 1 : 30. Doba odlepkování se pohybuje přibližně okolo jedné hodiny v závislosti na druhu reprodukované ryby. Pro odlepkování jiker lína, sumce velkého a jeseterů se hojně využívá odlepkovací roztok, jehož aktivní částí je enzym alkaláza. Jikry jsou tomuto roztoku vystaveny po dobu dvou minut, tento interval je velmi variabilní a závislý na chemických parametrech vody a šarži enzymu. (Linhart a kol., 2000, Linhart a kol., 2001). V provozních podmínkách se dále využívá celá řada odlepkovacích přípravků (suspenze jílu, suspenze talku) (Gela a kol., 2009).

Po odstranění lepivosti se jikry umísťují do inkubačních přístrojů nebo lahví (Zugská, Chasseova, Kanengiterova), kde se inkubují až do vylíhnutí larev (Gela a kol., 2009).

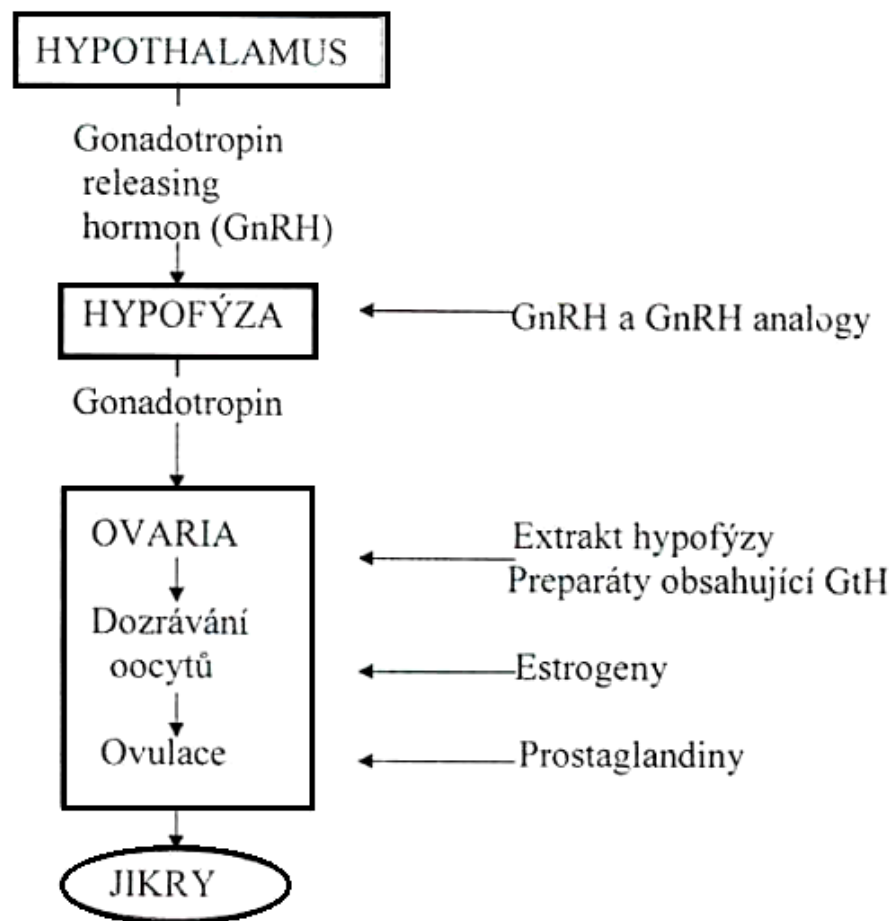
2.2.1. Indukce ovulace a spermiace

K indukci ovulace, spermiace a výtěru je možné přistoupit dvěma směry. V prvním případě jde o tzv. hypofyzární cestu, při které se používá čerstvá nebo acetonová hypofýza rozetřená ve fyziologickém roztoku (Zohar a Mylason, 2000). Použití hypofýzy sebou nese i celou řadu nevýhod. Jednou z nich je velká variabilita v obsahu koncentrace luteinizačního hormonu (LH), též označovaného jako GTH II. Obsah zmíněného hormonu v hypofýze se mění v závislosti na hmotnosti, pohlaví, věku ryby a období jejího odběru. Luteinizační hormon je důležitým hormonem pro růst zárodečné tkáně varlat u samců a sekrece testosteronu. U samic je naopak spolu s folikulostimulačním hormonem (FSH) hlavním indukčním hormonem spouštějící ovulaci jiker. Hypofýza dále obsahuje celou řadu ostatních hormonů, které mohou nepříznivě ovlivnit fyziologii ošetřených ryb. Velké riziko s sebou nese i přenos nemocí z dárců na příjemce. Jako možné náhradní řešení lze využít kalibrovaný extrakt kapří hypofýzy (CPE) s vyváženým množstvím GTH (Yaron, 1995).

Druhou metodou je využití cesty přes hypotalamus, v tomto případě je rybám aplikován super-aktivní analog GnRH. Jedná se o synteticky vyráběný analog hormonu, který má pozitivní dopad na sekreci GTH z hypofýzy. Předností využívání GnRHa je především přesná aplikace účinného množství, která je nezbytná pro indukci spermiace a nebo ovulace, nevyvolává žádné imunitní reakce a díky syntetické výrobě odpadá i problém s přenosem nemocí. Vlivem vyšší úrovně osy působení (hypotalamu-hypofýza - pohlavní žlázy) dochází k vyváženější úrovni stimulace reprodukce

a pravděpodobně i lepší integraci těchto akcí spojených s ostatními fyziologickými funkcemi. Dále vlivem přímého a nepřímého působení GnRH analogu dochází k ovlivnění ostatních hormonů odpovědných za nastartování ovulace a spermiace (Zohar a Mylason, 2000).

U kaprovitých ryb a keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) je nutné aplikovat spolu s GnRHa dopaminergní inhibitor (např. metoclopramid, reserpin, domperidon, apimozid), který funguje jako tzv. „zpětná klapka“ (inhibuje sekreci dopaminu a tím posiluje působení GnRHa). Tato metoda je známá pod názvem „Linpeho metoda“. U ostatních druhů, jako jsou lososovité ryby nebo lín (*Tinca tinca*, Linnaeus 1758) není tato metoda potřebná. K zajištění synchronizace ovulace se aplikuje pouze samotný GnRHa (Trudeau a Peter, 1995).



Obr. 3: Základní schéma hormonálního řízení ovulace u ryb (podle Kouřila a kol., 1999).

2.2.2. Hormonální přípravky

Využívání exogenních hormonů pro synchronizaci ovulace a spermiace ryb se datuje od roku 1930. Jako první byla používána čerstvě mletá hypofýza, získaná z pohlavně dospělých ryb obsahující jako funkční složku gonadotropin (LH), který je důležitý pro nastartování tvorby steroidů a dozrávání gonád. V dalších letech se začaly využívat čisté extrakty gonadotropinu získané přímo z ryb (kapr obecný - *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758, losos atlantský - *Salmo salar*, Linnaeus 1758) nebo i savčího původu (choriongonadotropin, hCG) (Zohar a Mylonas, 2001).

V roce 1970 došlo k objevení uvolňujícího gonadotropinového hormonu (GnRH), který u ryb indukuje sekreci vlastního rybího gonadotropinu z hypofýzy. Tento objev následně nastartoval produkci syntetických analogů GnRH označovaných jako GnRH-a, které představují novou generaci hormonální manipulace v používání hormonů v akvakultuře. Nejnovější vývoj ve využívání exogenních hormonů je dále zaměřen na produkci GnRH a v podobě polymerních nosičů s prodlouženým uvolňováním, které uvolňují hormon po dobu dnů až týdnů. Tyto způsoby ošetření zmírňují potřebu opakované aplikace hormonu a vyvolávají i dlouhodobé zvýšení produkce spermií (Zohar a Mylonas, 2001). Přehled nepoužívanějších hormonálních přípravků používaných v české akvakultuře zachycují podkapitoly 2.2.2.1. až 2.2.2.5.

2.2.2.1. Hypofýza

Jedná se o vyextrahovanou žlázu endokrinní soustavy vejčitého tvaru ležící na spodině mozku v jamce klínové kosti (tzv. tureckém sedle), která produkuje do krevního řečiště celou řadu hormonů (Dvořák a kol., 2014). Odběr hypofýzy se provádí v zimním období při zpracování ryb. Za nejúčinnější jsou však považované hypofýzy extrahované během přirozeného výtěru ryb (Zohar, 1989). Odebrané žlázy se ukládají do acetonu, kde dojde k jejich vysušení a následně poté se třídí podle velikosti. Obvyklá hmotnost jedné acetonem odvodněné hypofýzy se pohybuje mezi 2,5 – 4,5 mg. Za cennější a tedy účinnější hypofýzy jsou považované ty největší. Experimentálně však bylo zjištěno, že účinnost menších hypofýz je srovnatelná. Za účinnou dávku podávanou jikernačkám je označováno množství 2 – 6 mg · kg⁻¹. Vyšší dávky se nedoporučují rybám aplikovat, mohou způsobovat zdravotní potíže. Dehydratovaná hypofýza se skladuje v uzavřených skleněných láhvách, při pokojové teplotě. Doba

skladovatelnosti při dodržení způsobu uskladnění je až v řádu několik let. V České republice je nejčastěji používaná kapří hypofýza, v jiných zemích, například v Rusku a Litvě, používají jako náhradu dehydratovanou hypofýzu z cejna velkého (*Abramis brama*, Linnaeus 1758) (Kouřil a kol., 1999).

2.2.2.2. Chorulon

Chorulon je hormonální přípravek vyráběný holandskou firmou Intervet Internation B. V. V České republice není povolena jeho aplikace v provozním rybářství pro stimulaci ovulace. V případě importu zmíněného preparátu do ČR musí mít dovozce udělenou výjimku od Státní veterinární správy České republiky. Komerční balení chorionu je složeno z deseti ampulí, v pěti z nich je obsažen prášek s humánním choriovým gonadotropinem (hCG, z anglického sousloví *human chorionic gonadotropin*) o objemu 1500 IU na ampuli. Zbylých pět ampulí obsahuje pouze fyziologický roztok. Před vlastní aplikací se obě látky smíchají tak, aby se vytvořil homogenní roztok, který se následně injekčně aplikuje generačním rybám (Policar a kol., 2011). Humánní choriový gonadotropin je přirozený hormon získávající se z moči gravidních žen (Lam, 1982). Na rozdíl od ostatních LH přípravků extrahovaných z ryb, se hCG často podává v jedné dávce, která se pohybuje mezi 100 a 4000 mezinárodních jednotek na kilogram tělesné hmotnosti ryby (Ohta a Tanaka, 1997).

2.2.2.3. Ovopel

Jedná se o synteticky vyráběný maďarský preparát bílé barvy dodávaný v podobě lisovaných pelet podobající se svým tvarem hypofýze. V jedné kuličce preparátu jsou obsaženy dvě účinné složky, syntetický GnRH 20 μg a inhibitor dopaminu metoclopramid v dávce 2 mg (Horváth a kol., 1997). Za optimální dávku pro všechny druhy ryb se považuje jedna peleta na 1kg jikernačky. Před vlastní aplikací je nutné přípravek rozdrtit v třecí misce pomocí tloučku na jemný prášek, ke kterému se následně přilije fyziologický roztok a celá směs se důkladně promíchá tak, aby se vytvořila zmíněná suspenze vhodná k aplikaci. Během injikace generačních ryb je vždy nutné vytvořenou směs promíchat z důvodu rychlé sedimentace rozmělněného přípravku (Kouřil a kol., 2011).

2.2.2.4. Dagin

Přípravek Dagin je syntetický preparát produkovaný izraelskou firmou Gan Shamuel Fish – Hatchery (Yaron a kol., 2002). V jedné dávce počítané na 1kg generačních ryb jsou obsaženy dvě účinné látky. Jednou z nich je GnRH (10 µg) a druhou metoclopramid v dávce 20 mg. Přípravek je dodáván jako prášek v lyofilizovaném stavu v uzavřených ampulích. Před vlastní aplikací je nutné do ampulí dodat stanovený objem fyziologického roztoku na základě stanovené dávky. Následně po protřepání dojde k rozpuštění lyofilizovaného prášku a přípravek je připravený k injekční aplikaci obdobně jako ostatní preparáty (Kouřil a kol., 2011).

2.2.2.5. Supergestran

Supergestran je syntetický preparát dodávaný společností Nordic Pharma, s.r.o. Účinnou látkou je lecirelin. Jedná se o analog GnRH savčího typu. Komerční balení přípravku Supergestran obsahuje 10 skleněných ampulí, každá o objemu 2 ml s obsahem $25 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ mGnRH_a. Tato dávka odpovídá obsahu účinné látky, která se aplikuje na 1 kg živé hmotnosti generačních ryb. Před vlastní aplikací je nutné přípravek naředit fyziologickým roztokem na požadovaný objem (Švinger a kol., 2012).

2.3. HORMONÁLNĚ ŘÍZENÁ REPRODUKCE PISKOŘE PRUHOVANÉHO

Umělá reprodukce se u piskoře provádí pouze v omezeném rozsahu pro experimentální účely. Kouřil a kol. (1996) udávají za optimální teplotu pro umělý výtěr piskoře hodnotu 18°C.

Nejpoužívanějším hormonálním přípravkem pro indukci ovulace a spermiace u piskoře pruhovaného je aplikace homogenizované suspenze kapří hypofýzy v dávce $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti (Adámková-Stibranyiová a kol., 1999).

Kouřil a kol. (1996) udávají, že při umělém výtěru se dosahuje absolutní plodnost $8,6 \pm 4,2$ tisíc jiker. Relativní pracovní plodnost na 1 kg hmotnosti samic dosahuje 225 tisíc jiker (Adámková-Stibranyiová a kol., 1999).

Za optimální přípravek pro odlepkování jiker piskořů uvádí Kouřil a kol. (1996) použití čerstvého mléka s obsahem tuku 2 % ředěného s vodou v poměru 1 : 4.

Minimální délka odlepkování se pohybuje okolo 60 minut. Odlepkované jikry je možné následně inkubovat v Zugských lahvích. Délka inkubační doby je velmi závislá na teplotě vody. Při 18,5 °C se pohybuje na úrovni 3,5 dne (Kouřil a kol., 1996). Autoři Drozd a kol. (2009) uvádějí za optimální teplotní rozmezí teploty vody pro inkubaci 15 – 24 °C, při vyšších hodnotách nad 27 °C dochází podle autorů ke stoprocentní úmrtnosti jiker. V nižších hodnotách na úrovni 9 °C není sice zaznamenána zvýšená úmrtnost, ale dochází k prodloužení doby inkubace až na 17,5 dne.

2.4. VLIV HORMONÁLNÍ INDUKCE NA LÍHNIVOST A KVALITU PLŮDKU

Výběr správného hormonálního přípravku a zvolení optimální dávky je jedním ze základních kamenů pro zvládnutí umělé reprodukce u mnoha druhů ryb (Barbaro a kol. 1997). V posledních několika letech je tomuto tématu věnována značná pozornost. Většina publikovaných experimentů se zabývá studii hodnotícími účinnost zvoleného preparátu a dávky pouze do stádia vylíhnutí larev a další dopady, jako je například životaschopnost a kvalita plůdku, není řešena (DiMaggio a kol., 2013).

Životaschopnost a kvalita jiker je podle Avery a kol. (2004) ovlivňována způsobem hormonálního ošetření generačních ryb. Ve svém experimentu porovnávají dopad spontánní a indukované ovulace pomocí hormonů na platýsovi zlatém (*Limanda ferruginea*, Storer 1839). Výsledky jejich experimentu ukazují, že spontánně ovulující samice vykazují vyšší hmotnost a odolnost jiker. Naopak samice ošetřené hormonálním stimulantem vykazují nižší hmotnost jiker s významně vyšší mírou úmrtnosti v druhé polovině inkubační doby.

Úspěšnost indukované ovulace je závislá na zvolení správné cesty hormonálního ošetření, které se liší druh od druhu. Brzuska (2005) testovala rozdílnost hormonálního ošetření u keříčkovců červenolekých, kterým aplikovala kapří hypofýzu v dávce $4\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti s přípravkem Aquaspawn (komplex GnRH-a s domperidonem) v dávce $0,5\text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti⁻¹. Došla k závěru, že ryby ošetřené kapří hypofýzou vykazují pouze o 13 % vyšší ovulační poměr než ryby ošetřené syntetickým preparátem. Rozdílnost v kvalitě jiker v závislosti na použitém preparátu ale nepotvrdila. Narozdíl od předešlé studie, Wang a kol. (2009a) se ve svém experimentu zabývali aplikací GnRH-a v čisté podobě a dále v kombinaci

s antagonisticky působícím dopaminem (domperidon - DOM) u příbuzného druhu piskoře dálnovýchodního (*Misgurnus anguillicaudatus*, Candor 1824). Ze zvolených přípravků uvádějí autoři jako nejúčinnější hormonální ošetření kombinací GnRHa + DOM v dávkách 20 ug + 10 mg a 40 ug + 20 mg · kg⁻¹, při kterých dosáhli nejvyššího procenta ovulujících samic (100 %) a velice vysoké míry průměrné líhnivosti larev (90 %). Nejvyšších hodnot líhnivosti larev (93 %) však dosáhli při aplikaci extraktu kapří hypofýzy (CPE) v dávce 2 mg · kg⁻¹, která byla použita jako pozitivní kontrola. Procento ovulujících samic však bylo výrazně nižší (pouze 50%). Nejméně efektivní, z hlediska procenta ovulovaných ryb (20 – 40 %), se ukázalo hormonální ošetření pomocí čistého analogu GnRHa v dávkách 10 – 60 ug · kg⁻¹ bez současného podání dopaminního inhibitoru.

3. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zjistit vliv vybraných komerčně dostupných hormonálních preparátů použitých při řízené reprodukci na produkci plůdku piskoře pruhovaného v umělých podmínkách a posoudit tak vhodnost jednotlivých preparátů při hormonálně indukované reprodukci piskoře pruhovaného.

Dílčí cíle:

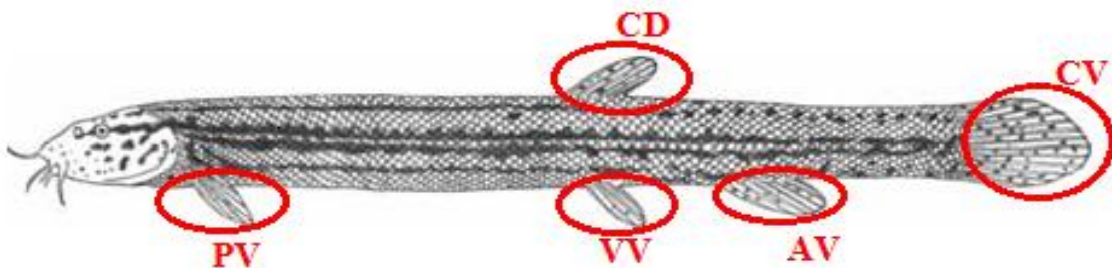
- 1) Porovnat účinnost jednotlivých hormonálních přípravků a jejich dávek z hlediska líhnivosti larev (množství vylíhlých larev z celkového počtu nasazených jiker).
- 2) Zjistit vliv použitých hormonálních přípravků a jejich dávek na životaschopnost larev v prvním měsíci života.
- 3) Posoudit dopad jednotlivých hormonálních přípravků a jejich dávek na vybrané morfometrické (délka těla, objem žloutkového váčku) a gravimetrické (mokrá a suchá hmotnost) ukazatele odchovaného plůdku.
- 4) Zhodnotit vliv hormonálního preparátu a jeho dávky na prvkové složení a množství deponované energie (spalné teplo) u plůdku ve stáří jednoho měsíce.
- 5) Nalézt vhodný, efektivní, alternativní hormonální přípravek pro řízenou reprodukci piskoře pruhovaného nahrazující homogenát kapří hypofýzy (nestandardizovaný, neschválený přípravek na území EU).

4. METODIKA

4.1. CHARAKTERISTIKA POKUSU

Experiment proběhl v akvarijní místnosti Ústavu akvakultury a ochrany vod Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské Univerzity v Českých Budějovicích. Vybraným experimentálním druhem byl zvolen piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*). U tohoto druhu byl studován dopad hormonální stimulace ovulace generačních ryb na životaschopnost a kvalitu plůdku v prvním měsíci života v umělých podmínkách.

Generační jedinci pocházeli z rybníčního chovu ve vlastnictví FROV JU ve Vodňanech. Dne 18.4.2014 byly ryby odloveny pomocí elektrického agregátu z pokusného rybníku. Teplota vody v průběhu odchyty dosahovala hodnoty 8 °C. Celkem bylo odloveno 53 samic a 77 samců. Odlovené ryby byly následně převezeny do experimentálního zázemí v Českých Budějovicích. Po transportu byli samci zváženi (průměrná individuální hmotnost \pm S.D. = 27,8 \pm 0,7 g) a nasazeni do předem připravených žlabů se substrátem a vodou o teplotě 11°C. Samice byly rozříděny do deseti experimentálních skupin označených římskými číslicemi I. až X. (číslice označovaly způsob hormonální stimulace použité při umělé reprodukci a dávku aplikovaného hormonálního preparátu). V každé skupině bylo 5 samic (viz tab. 1). Každá samice ve skupině byla zvážena a individuálně označena pomocí elastomerů aplikovaných pod kůži do základny ploutví podle předem stanoveného klíče (viz. obr. 4).



Obr. 4: Klíč individuálního značení samic v rámci skupiny, značeno k základnám ploutví (PV – prsní ploutev, VV – břišní ploutev, AV – řitní ploutev, CD – hřbetní ploutev, CV – ocasní ploutev) (Hartvich a kol., 2009).

Hmotnost samic byla v průměru $43,2 \pm 4,1$ g (průměr \pm S.D.). Veškerá manipulace s generačními jedinci byla prováděna co nejšetrnějším způsobem za použití anestézie (hřebíčkový olej v dávce $0,05 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$). Základním požadavkem pro úspěšné proběhnutí pokusu bylo získat pomocí umělého výtěru požadované množství oplozených jiker od každé hormonálně ošetřené skupiny tak, aby bylo možné rovnoměrně nasadit celý experimentální systém.

Tab. 1: Rozdělení jednotlivých experimentálních skupin podle způsobu hormonálního ošetření a průměrná individuální hmotnost samic při umělé reprodukci.

Skupina	Hormonální přípravek	Průměrná individuální hmotnost samic (g)
I.	Hypofýza ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$42,11 \pm 5,40$
II.	Pregnyl ($1\,500 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$45,18 \pm 5,40$
III.	Pregnyl ($3\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$44,82 \pm 5,49$
IV.	Chorulon ($1\,500 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$45,29 \pm 4,92$
V.	Chorulon ($3\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$42,41 \pm 5,81$
VI.	Ovopel (peleta $\cdot \text{kg}^{-1}$)	$46,68 \pm 7,63$
VII.	Dagin (lahvička $\cdot 40 \text{ kg}^{-1}$)	$42,40 \pm 6,15$
VIII.	Ovaprim ($1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$42,44 \pm 7,94$
IX.	Ovaprim ($2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$45,21 \pm 6,27$
X.	Fyziologický roztok ($0,2 \text{ ml} \cdot \text{ks}^{-1}$)	$43,22 \pm 4,01$

4.1.1. Příprava generačních ryb před výtěrem

Generační ryby byly rozděleny do jednotlivých experimentálních skupin a následně umístěny do předem připravených plastových nádob se substrátem a vodou umístěných ve žlabu o teplotě vody $11 \text{ }^\circ\text{C}$. V následujících třech dnech byly generační ryby pozvolně temperovány na požadovanou výtěrovou teplotu (pro samice $19 \text{ }^\circ\text{C}$ a pro samce $18 \text{ }^\circ\text{C}$). Dne 23.4.2014 v brzkých ranních hodinách byla rybám intramuskulárně aplikována první dávka (přípravná dávka) hormonálních preparátů a následně po dvanácti hodinách byla aplikována druhá dávka (hlavní dávka) (viz tab. 2). Jako pozitivní kontrola byla zvolena acetonoaná kapří hypofýza v dávce $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a negativní kontrolou byl fyziologický roztok (aplikace $0,2 \text{ ml} \cdot \text{ks}^{-1}$).

Tab. 2: Aplikační schéma jednotlivých hormonálních přípravků při řízené reprodukci piskoře pruhovaného

Skupina	Hormonální přípravek	Dávky (přípravná + hlavní)	Dávka č. 1 23.4.2014 (čas)	Dávka č. 2 23.4.2014 (čas)
I.	Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	0,5 + 4,5 mg · kg ⁻¹	00:00	12:00
II.	Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	150 + 1350 IU · kg ⁻¹	02:30	14:40
III.	Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	300 + 2 700 IU · kg ⁻¹	00:30	12:40
IV.	Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	150 + 1350 IU · kg ⁻¹	03:00	15:05
V.	Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	300 + 2 700 IU · kg ⁻¹	01:00	13:10
VI.	Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	0,1 + 0,9 peleta · kg ⁻¹	01:30	13:35
VII.	Dagin (lahvička · 40 kg ⁻¹)	0,1 + 0,9 peleta · kg ⁻¹	02:00	14:05
VIII.	Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	0,1 + 0,9 ml · kg ⁻¹	03:30	15:55
IX.	Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	0,2 + 1,8 ml · kg ⁻¹	04:00	16:05
X.	Fyziologický roztok (0,2 ml · ks ⁻¹)	0,2 ml · ks ⁻¹	03:35	16:10

4.1.2. Výtěr generačních ryb

Dne 24.4.2014 byl proveden umělý výtěr pomocí tzv. suché metody. Každá ovulující samice ve zvolené skupině byla vytřena do individuálně označené suché misky. Následně byly vytřené jikry osemeněny spermatem od tří mlíčáků. Jako oploďňovací roztok byla zvolena vytemperovaná voda z líhně (18 °C). Oplozené jikry byly následně vysazeny do odchovných akvárií, kde byly inkubovány. V průběhu inkubace byly zaznamenávány počty uhynulých jiker, nevylíhnutých jedinců a počet přeživších.

4.1.3. Experimentální odchov

Odchovný experiment byl nasazen 28.4.2014 a ukončen 4.6.2014 s délkou trvání 38 dní. Vylíhlé larvy byly vysazeny do předem připravených akvárií s vytemperovanou vodou na 18°C. Odchovná akvária byla nesmazatelně označena individuálním kódem (např. ICV3), kdy první číslo označovalo způsob hormonálního ošetření matečných ryb (skupinu ryb), kombinace dvou velkých písmen značila danou samici (od které larvy pocházely) a poslední číslo označovalo opakování. Do odchovných akvárií bylo nasazeno 150 – 250 vylíhlých larev. Výška sloupce vody v tomto období byla nastavena na 12 cm. V prvních třech dnech po nasazení larvy vstřebávaly žloutkový váček. Po třech dnech odchovu byl zaznamenán přechod na exogenní výživu. Larvám se začala

v časových úsecích 08:00, 11:00, 13:00, 16:00, 19:00 hodin podávat dekapsulovaná vajíčka artémie v dávce ad libitum.

4.1.4. Odběr vzorků

Na začátku pokusu byly odebrány vzorky pro gravimetrickou analýzu (40 ks larev od samice) a v průběhu pokusu byly dále odebrány vzorky pro morfometrické analýzy, viz tabulka č. 3. Odebrané vzorky byly fixovány ve 4 % roztoku formaldehydu. Dále byla dvakrát denně zaznamenávána mortalita (počet uhynulých jedinců). Na konci pokusu byly odebrány vzorky pro prvkovou, gravimetrickou a energetickou analýzu (stanovení množství spalného tepla) v celkovém množství 200 ks larev od každé skupiny, které byly skladovány v plastových boxech v hlubokomrazící mrazničce při teplotě -80 °C.

Tab. 3: Přehled vzorkovacích dní, počet odebraných larev od každé samice pro morfometrické a gravimetrické hodnocení

Datum	Počet ks larev · samice ⁻¹	Počet ks larev · akvária ⁻¹	Celkový počet odebraných larev · den ⁻¹
28.4.2014	9	3	396
5.5.2014	6	2	264
12.5.2014	6	2	264
19.5.2014	6	2	264
26.5.2014	6	2	264
4.6.2014	10	3 (4)	440
		suma	1892

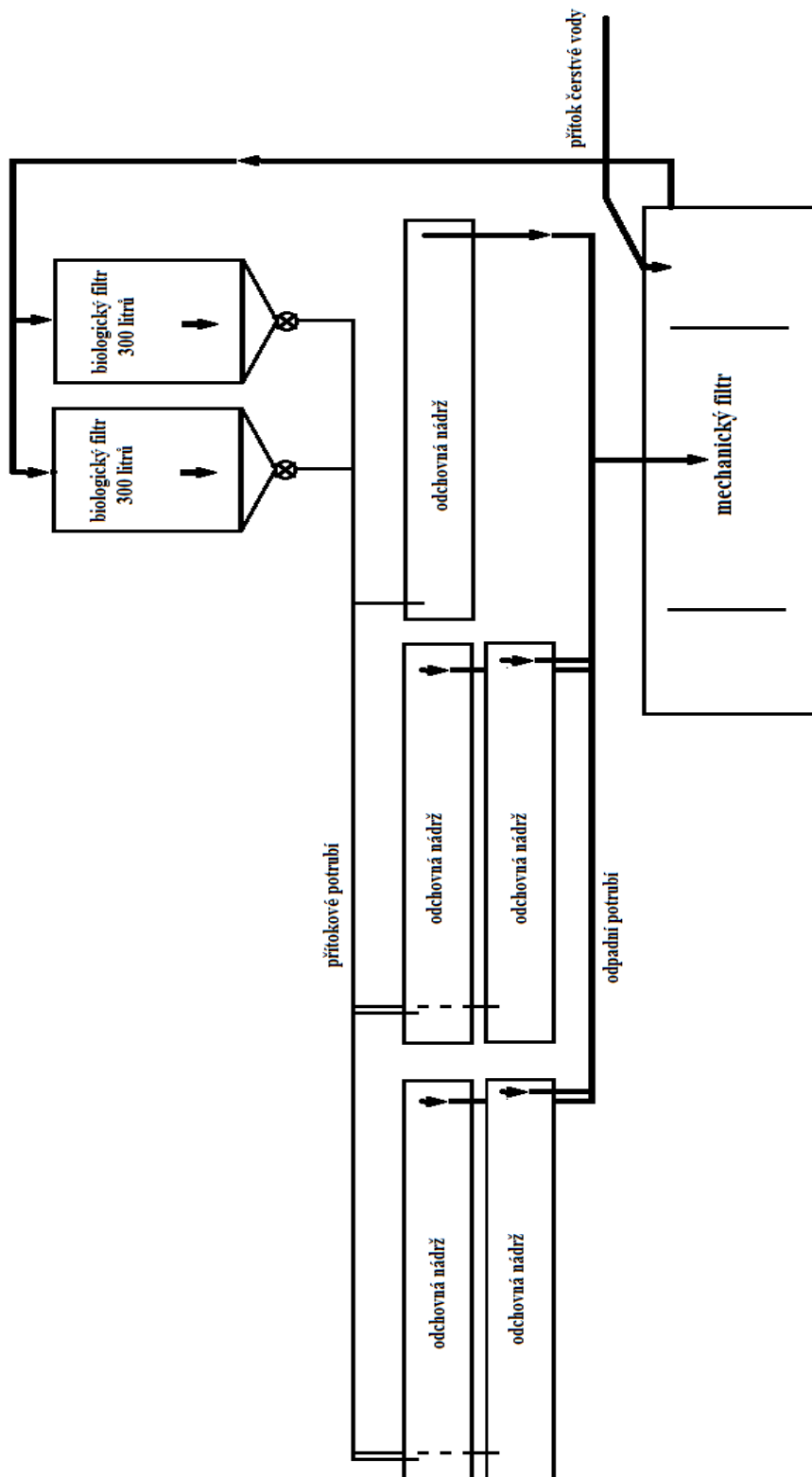
4.2. POPIS RECIRKULAČNÍHO AKVAKULTURNÍHO SYSTÉMU

Experimentální odchov larev proběhl ve 132 akváriích, která byla situována v pěti plastových žlabech, každý o objemu 300 litrů. Pro každou skupinu bylo vymezeno 15 akvárií (3 akvária na samici), rozmístění a počet odchovných akvárií je uveden v tabulce č. 4. Výměnu vody a optimální cirkulaci v odchovném žlabu zajišťovala dvě čerpadla, umístěná v protilehlých rozích o výkonu 15 Wattů. Přívod čisté vody byl řešen pomocí individuálního přítoku do každého akvária. Nezbytnou částí zajišťující optimální kvalitu vody bylo každodenní odkalování dna nádrží od zbytků krmiva a exkrementů. Znečištěná voda z akvária odtékala přes porézní stěnu (uhelonové síto) do odchovného žlabu, odkud byla následně pomocí centrálního odtoku gravitačně vedena

na mechanický filtr. Filtrační jednotkou filtru byl „Bioakvacit“ s pórovitostí PPI 10. Mechanicky přečištěná voda byla následně pomocí čerpadel dopravována na biologické filtry. Pro experiment byla navržena soustava dvou biologických filtrů každý o kapacitě 300 l, které byly naplněny plastovými elementy umožňujícími uchycení nitrifikačních bakterií. Do každého biologického filtru byly zavedeny dva přívody vzduchu, které zajišťovaly optimální nasycení vody kyslíkem a víření plastových elementů. Součástí systému dále byla topná tělesa o výkonu 300 Wattů a chladicí systém „Hailea HC - 500A“, které byly napojeny na řídicí jednotku hlídající zvolenou teplotu vody. Výměna vody a odkalení recirkulačního akvakulturního systému (RAS) bylo prováděno každý den. Celková denní výměna vody činila přibližně 500 litrů.

Tab. 4.: Rozmístění experimentálních odchovných skupin do jednotlivých odchovných žlabů.

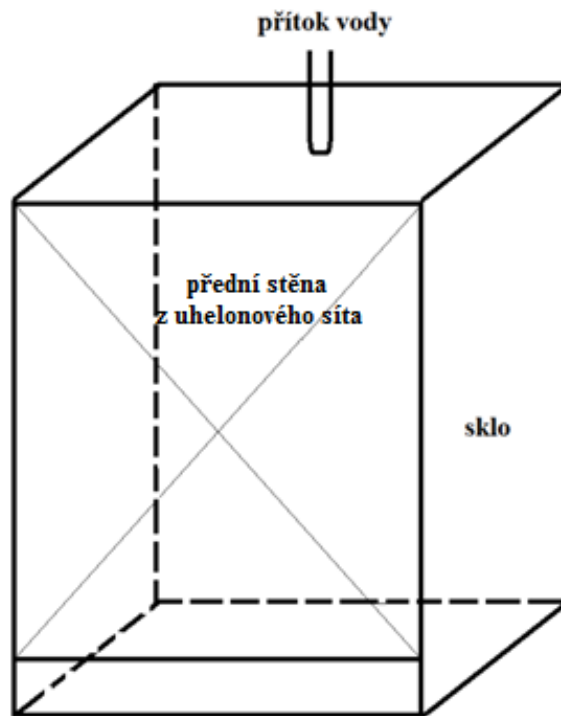
označení žlabu	skupina	počet akvárií ve žlabu
1.	I. a II.	30
2.	III. a IV.	30
3.	V. a VI.	27
4.	VII. a VIII.	30
5.	IX.	15



Obr. 5: Schéma s popisem recirkulačního akvakulturního systému využitého při experimentálním odchovu larev piskoře pruhoanáho.

4.2.1. Odchovné akvárium

V experimentu byla využívána pro odchov larev lepená akvária z tabulového skla o tloušťce 4 mm s čtvercovou základnou o velikosti 14 x 14 cm a výškou 25 cm. Navržená akvária se lišila od klasického akvária tím, že měla 85 % přední stěny nahrazených uhelonovým sítem, které zajišťovalo optimální výměnu vody a zamezovalo úniku larev. Celkový odchovný objem nádrže byl stanoven na 5 litrů.



Obr. 6: Schematický náčrt odchovného akvária s přítokem vody na zadní stěnu a odtokem v přední části přes uhelonovou stěnu.

4.2.1.1. Výměna vody v akváriu

Velikost přítoku byla zjištěna pomocí přímé metody tzv. objemového měření do nádoby a vypočítaná podle vzorce: $Q = \frac{V}{t}$

V je objem nádrže v litrech

t je doba naplnění nádrže za jednotku času (s).

Následně po vypočtení přítoku z deseti měření byl stanoven průměrný přítok, jehož hodnota byla dělena kapacitou nádrže (5 litrů). K celkové výměně vody v akváriu dojde za 43 minut.

4.3. HODNOTÍCÍ UKAZATELE

4.3.1. Líhivost larev

U každé experimentální skupiny a akvária byl po skončení kulení zjištěn celkový počet vylíhlých larev a počet nevylíhlých jiker. Pro stanovení líhivosti (% vylíhlých larev z celkového iniciálního počtu nasazených jiker) byl zohledněn i počet uhynulých oplozených jiker v průběhu inkubace jiker. Líhivost byla stanovena na základě matematického vzorce:

$$\text{Líhivost larev} = \frac{\sum \text{vylíhlých živých larev}}{\sum \text{nasazených jiker}} * 100$$

4.3.2. Životaschopnost (přežívání) larev

V průběhu experimentu (vykulení až konec pokusu) byla dvakrát denně v každé skupině a repetici individuálně sledována a zaznamenávána mortalita larev (počet uhynulých larev). Následně byla stanovena životaschopnost larev jako míra kumulativního přežívání (viz matematický vzorec níže) za sledované období.

$$\text{Životaschopnost larev} = \frac{\sum \text{nasazených larev} - \sum \text{uhynulých larev}}{\sum \text{nasazených larev}} * 100$$

4.3.3. Morfometrie larev

Odebrané vzorky larev (6 vzorkovacích dní během pokusu) byly hodnoceny po třech měsících od jejich odběru. Larvy byly nejprve vyjmuty ze vzorkovnic a následně jednotlivě umístěny na podložní skličko, na kterém byly snímány pomocí optické soustavy binokulární lupy (STM 723, IntracoMicro, ČR) s digitální zrcadlovkou (Olympus E-600, Olympus, Japonsko). Digitální snímky byly následně zpracovány na PC pomocí softwaru analýzy obrazu (MicroImage vision 4.0.). Byly analyzovány čtyři morfometrické parametry (TL – celková délka těla, SL – délka těla, a YsD – výška žloutkového váčku, YsL – šířka žloutkového váčku).

4.3.3.1. Objem žloutkového váčku

Pro výpočet objemu žloutkového váčku (v μl) byl zvolen vzorec pro protáhlý sféroid podle Blaxtera a Hempela (1963):

$$YsV = [\pi / 6] \cdot YsL \cdot YsD^2$$

YsL - šířka žloutkového váčku

YsD - výška žloutkového váčku

4.3.4. Gravimetrie larev

Larvy odebrané na začátku a na konci pokusu byly zváženy na analytických váhách. Byla zjišťována průměrná individuální mokrá hmotnost (W_w). U larev odebraných na začátku a na konci pokusu byla dále zaznamenávána suchá hmotnost (W_d). Před vlastním vážením (suchá hmotnost) byly larvy umístěny po 9 ks na Petriho misku a sušeny v sušárně při 60 °C po dobu 12 hodin. Po vysušení byly larvy umístěny do exsikátoru z důvodu zchlazení a zamezení vniku vzdušné vlhkosti. Larvy pak byly následně rozmělněny a zváženy.

4.3.5. Prvková a energetická analýza

Vzorky larev odebrané při ukončení pokusu (4.6.2014) byly podrobeny energetické a prvkové analýze základních biogenních prvků – uhlíku (C), vodíku (H), kyslíku (O), dusíku (N) a síry (S). Odebrané vzorky byly až do jejich zpracování umístěny v hlubokomrazicí mrazničce při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následně po třech měsících uskladnění byly vzorky rozmrazeny, usušeny (stejným způsobem jako v případě gravimetrických analýz), zhomogenizovány a zanalyzovány pomocí prvkového analyzátoru CHNS-O ThermoFinniganFlash EA 1112 (Finnigan, Itálie).

Hlavní podstatou této analytické metody bylo spálení vzorku v proudu kyslíku za vysoké teploty s následným oddělením vzniklých plynů a detekci jednotlivých prvků pomocí TCD detektoru. Stejným způsobem byly připraveny i vzorky na energetické analýzy, při kterých bylo termickou analýzou za pomoci kalorimetru MS 10A (Laget, ČR) měřeno množství uvolněné energie a určeno tzv. spalné teplo.

Ke statistickému zhodnocení získaných dat byl použit program STATISTICA12.0 (StatSoft, USA), kdy byly využity následující statistické metody: Kruskal - Wallis test a následně pro zjištění signifikantního rozdílu mezi skupinami test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny $P < 0,05$, ANOVA (analýza variance) s následným Tukey HSD testem.

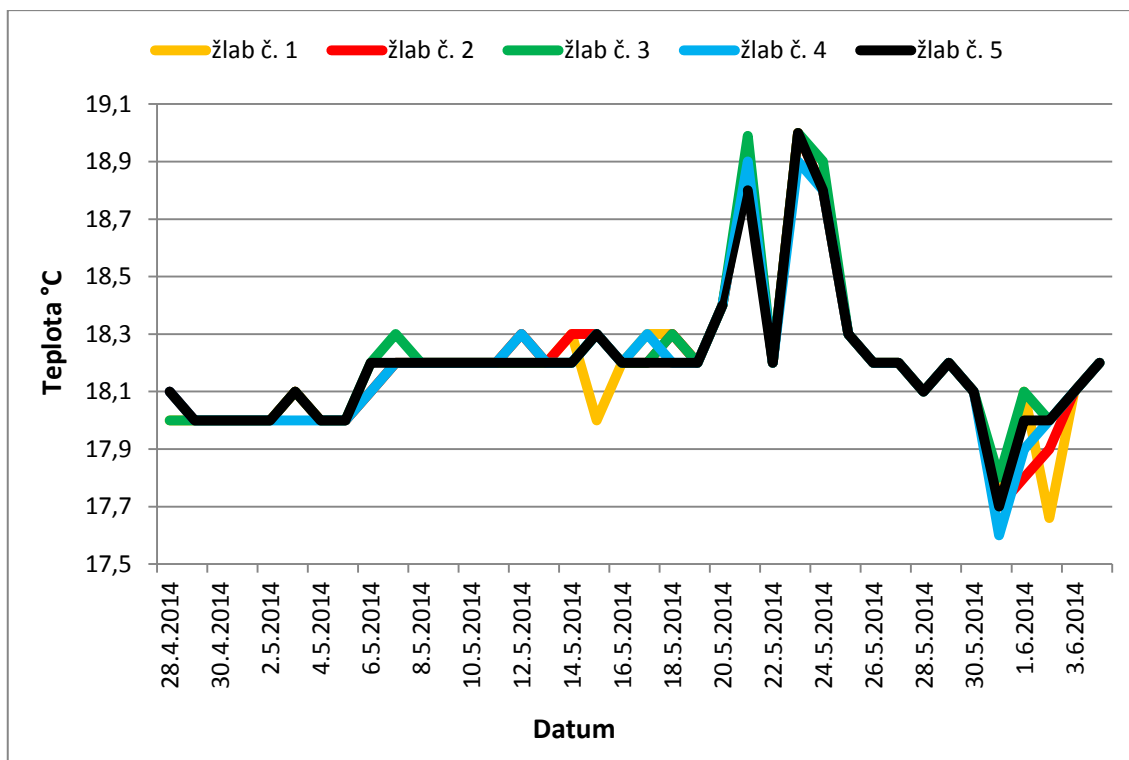
Ke grafickému znázornění pozorovaných parametrů byl použit Microsoft Office Excel 2009.

4.4. FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ VLASTNOSTI VODY

V průběhu pokusu byla každý den zaznamenávána teplota vody, pH a obsah rozpuštěného kyslíku. Parametry byly měřeny v 8:00 a v 16:00 pomocí ručního oximetru typu Hach - HQ40D18.

4.4.1. Teplota

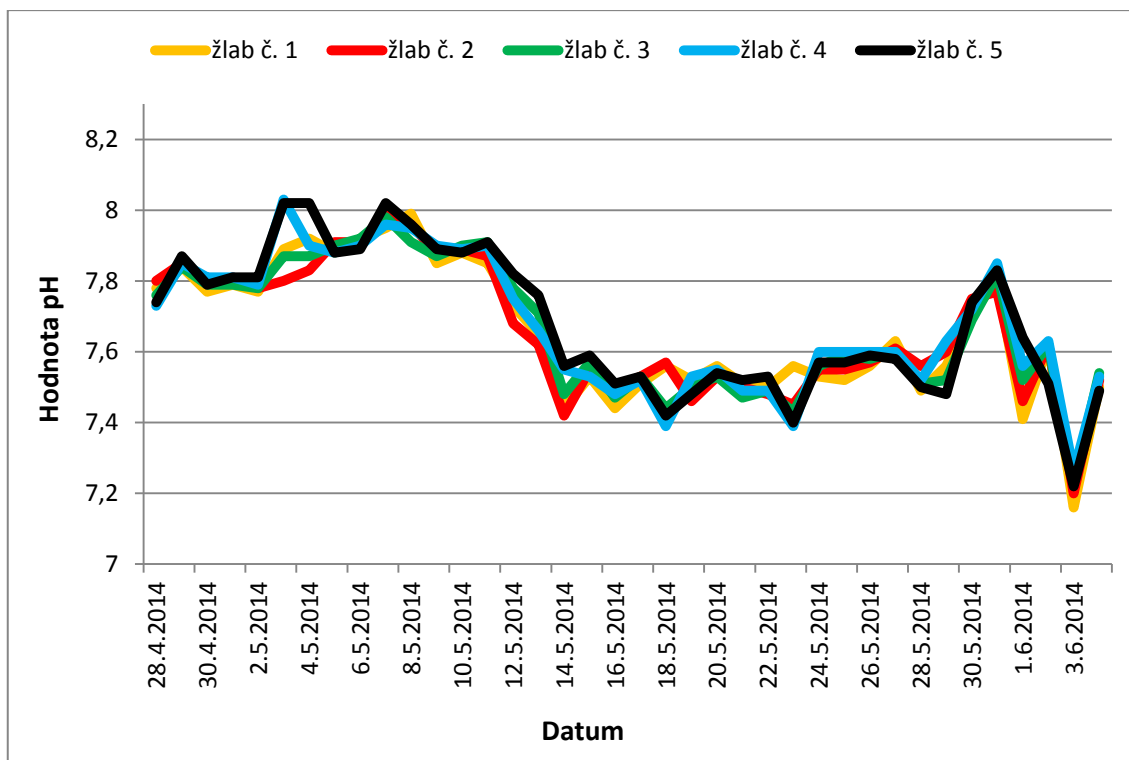
Průměrná teplota vody v průběhu experimentálního odchovu dosahovala hodnoty $18,19 \pm 1,11\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nejnižší hodnota ($17,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) byla zaznamenána 31.5.2014 v odchovném žlabu č. 4. Naopak nejvyšší hodnota ($19,3\text{ }^{\circ}\text{C}$) byla naměřena 23.5.2014 v odchovném žlabu č. 5. Průběh teplot v jednotlivých žlabech je znázorněn v grafu 1.



Graf 1: Průběh teplot vody (°C) pro jednotlivé odchovné žlaby zaznamenávaný dvakrát denně v pravidelném intervalu 8:00 a 16:00 hod. za celé experimentální období (28.4.2014 – 4.6.2014) odchovu larev piskoře pruhovaného.

4.4.2. pH

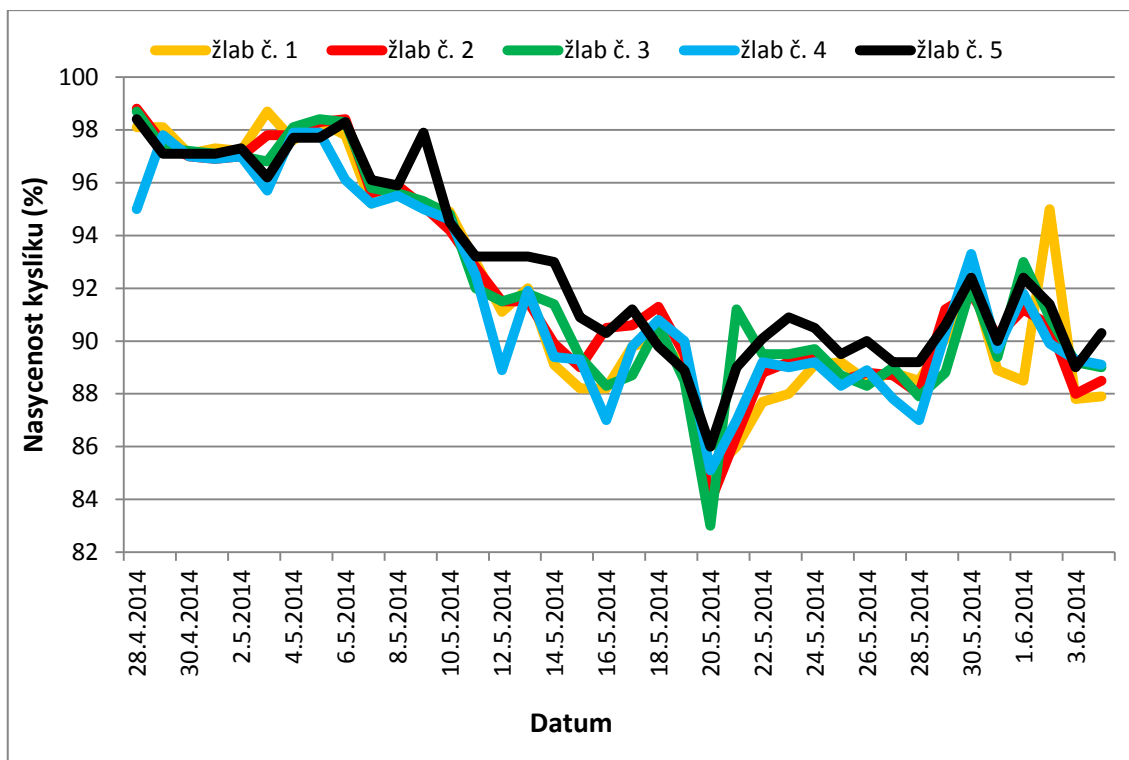
V průběhu odchovného experimentu bylo dosaženo průměrné hodnoty pH 7,67 ± 0,56. Nejvyšší hodnota pH vody (8,03) byla zaznamenána ve dnech 4.5. a 5.5.2014 v odchovném žlabu č. 5. Nejnižší hodnota pH vody (7,11) byla zaznamenána dne 3.6.2014 v odchovném žlabu č. 1. Průběh hodnot pH vody vykazoval klesající tendenci, výjimkou byl den 3.6.2014, kdy došlo k výměně většího objemu vody, který způsobil daný nárůst, viz graf 2.



Graf 2: Průběh naměřených hodnot pH vody pro jednotlivé odchovné žlaby zaznamenávaný dvakrát denně v pravidelném intervalu 8:00 a 16:00 hod. za celé experimentální období (28.4.2014 – 4.6.2014) odchovu larev piskoře pruhovaného.

4.4.3. Obsah rozpuštěného kyslíku

Během experimentu bylo dosaženo průměrného nasycení vody kyslíkem $91,97 \pm 8,97$ %. Neoptimálnější hodnoty 98,8 % obsahu kyslíku bylo dosaženo dne 28.4.2014 v odchovném žlabu č. 2. Naopak nejnižší úroveň nasycenosti (83 %) byla zaznamenána dne 20.5.2014 v odchovném žlabu č. 3. Nasycenost vody kyslíkem vykazovala v průběhu experimentu klesající tendenci se zvětšující se velikostí larev. Průběh hodnot je znázorněn v grafu č. 3.

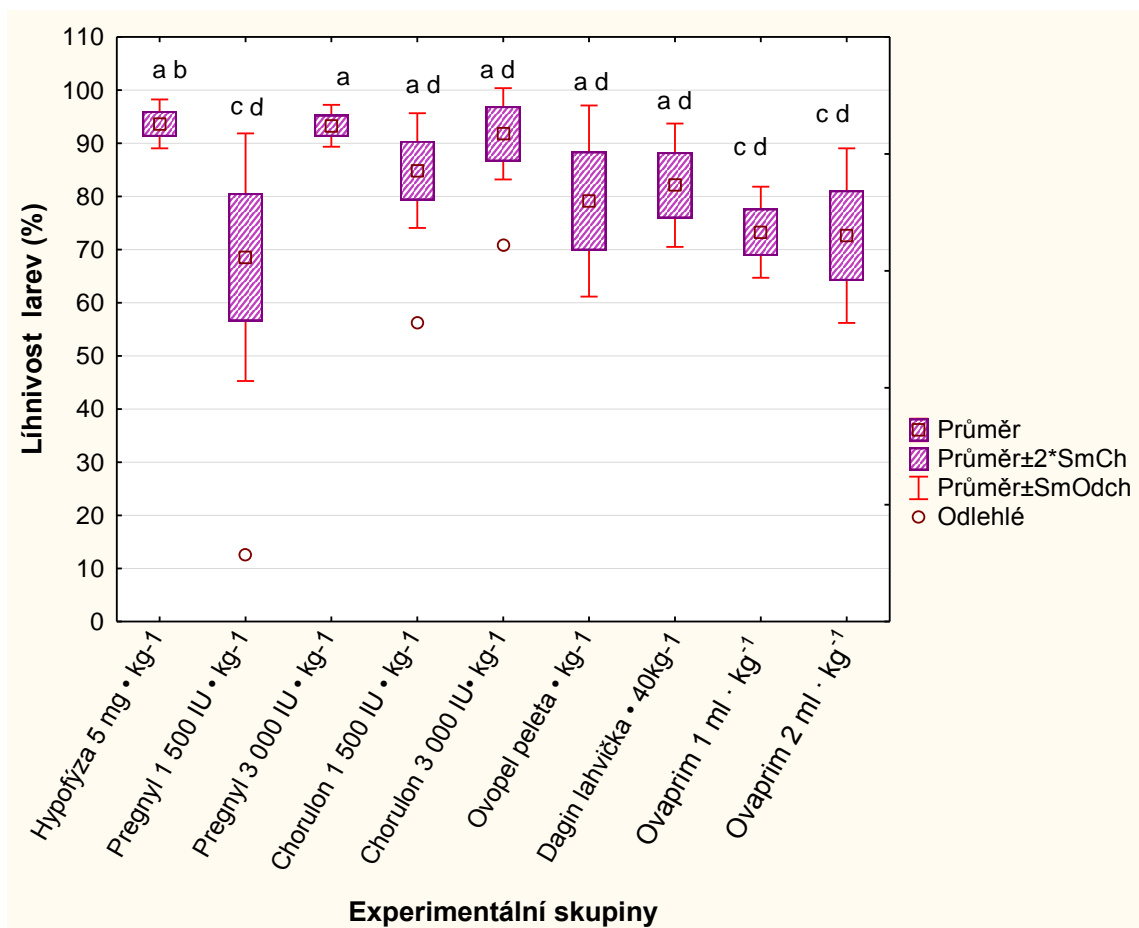


Graf 3: Nasycení vody kyslíkem (%) pro jednotlivé odchovné žlaby, zaznamenávaný dvakrát denně v pravidelném intervalu 8:00 a 16:00 hod. za celé experimentální období (28.4.2014 – 4.6.2014) odchovu larev piskoře pruhošaného.

5. VÝSLEDKY

5.1. LÍHNIVOST LAREV

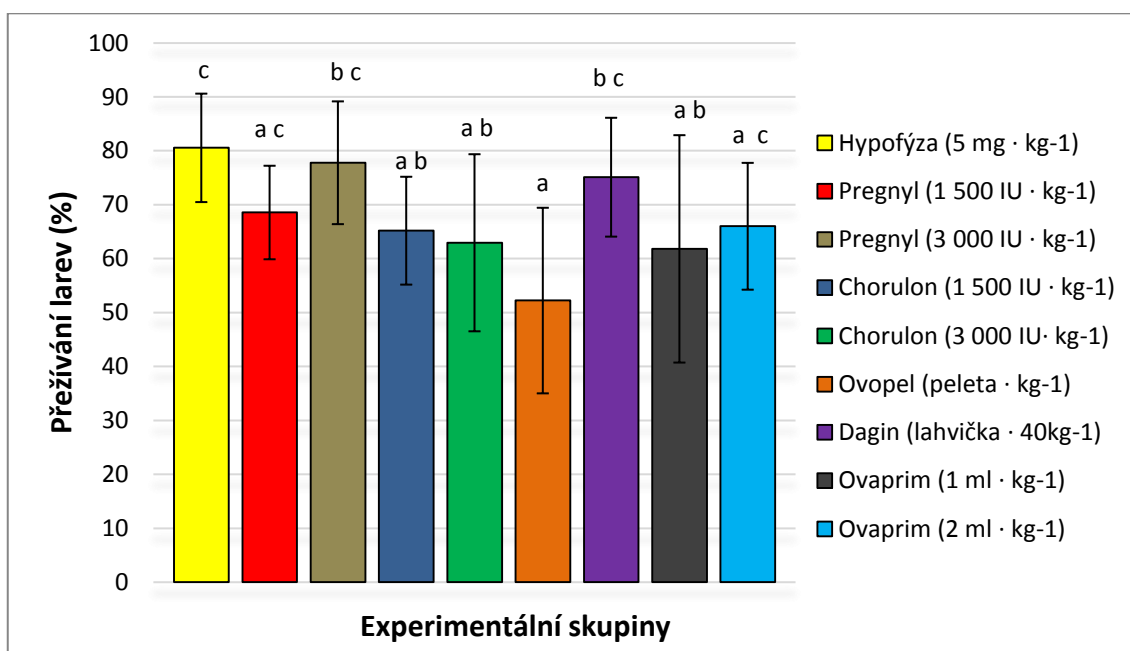
Průměrná míra líhnivosti larev se pohybovala v rozmezí od 65 % do 94 %. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl pro líhnivost nalezen statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 132) = 54.42686, p = 0,00$] - viz graf 4. Nejvyšší průměrná líhnivost larev ($93,3 \pm 3,8 \%$), srovnatelná se skupinou injikovanou kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola) byla zaznamenána při použití hormonálního ošetření pomocí preparátu Pregnyl v dávce $3\ 000\ \text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Tyto skupiny se však statisticky průkazně nelišily od kontrolní skupiny: Chorulon $1\ 500\ \text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($87,2 \pm 7,2 \%$), Chorulon $3\ 000\ \text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($87,7 \pm 11,7 \%$), Dagin ($85,5 \pm 7,4 \%$) a Ovopel ($77,06 \pm 18,10 \%$).



Graf 4: Líhnivost larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) vyjádřená v procentech (průměr ± S. D.) z celkové sumy nasazených jiker pro jednotlivé experimentální skupiny. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b, c, d) se od sebe statisticky průkazně neliší (Test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny, $P < 0,05$).

5.2. PŘEŽÍVÁNÍ LAREV PO VYKULENÍ

Průměrná míra přežívání larev od vykuleení po konec pokusu se pohybovala od 52 % do 81 %. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl z hlediska míry přežívání nalezen statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 132) = 33,30927, p = 0,0001$] - viz graf 5. Nejvyšší průměrná míra přežívání larev ($77,8 \pm 11,3$ %) srovnatelná se skupinou injikovanou kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola) byla zaznamenána při použití hormonálního ošetření pomocí preparátu Pregnyl v dávce $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Tyto skupiny se však statisticky průkazně nelišily od kontrolní skupiny: Pregnyl $1\,500\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($68,55 \pm 8,67$), Dagin ($75,1 \pm 11,02$ %) a Ovaprim $2\text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($68,01 \pm 11,75$ %).

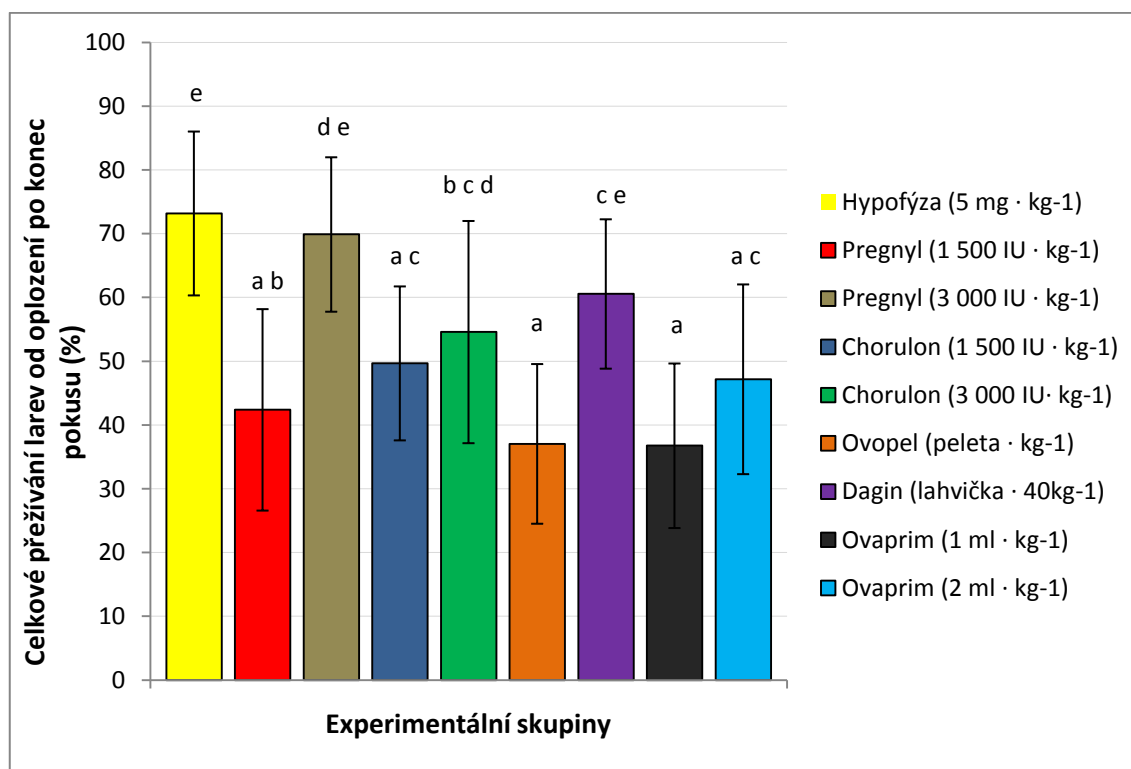


Graf 5: Přežívání larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) vyjádřeno v procentech (průměr \pm S. D.) z celkové sumy nasazených larev pro jednotlivé experimentální skupiny. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b, c) se od sebe statisticky průkazně neliší (Test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny, $P < 0,05$).

5.3. CELKOVÉ PŘEŽÍVÁNÍ LAREV OD NASAZENÍ JIKER DO KONCE POKUSU

Celkové průměrné hodnoty přežívání larev od nasazení jiker do konce pokusu se pohybovaly v rozmezí od 37 % do 73 %. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl nalezen statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 132)$].

= 60.09346, $p = 0,00$] - viz graf 6. Nejvyšší průměrná hodnota celkového přežívání larev ($69,9 \pm 12,1$ %), srovnatelná se skupinou injikovanou kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola) byla zaznamenána při použití hormonálního ošetření pomocí preparátu Pregnyl v dávce $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Dále se statisticky průkazně od kontrolní skupiny nelišila skupina ošetřená přípravkem Dagin s celkovou hodnotou přežívání $60,56 \pm 11,71$ %.

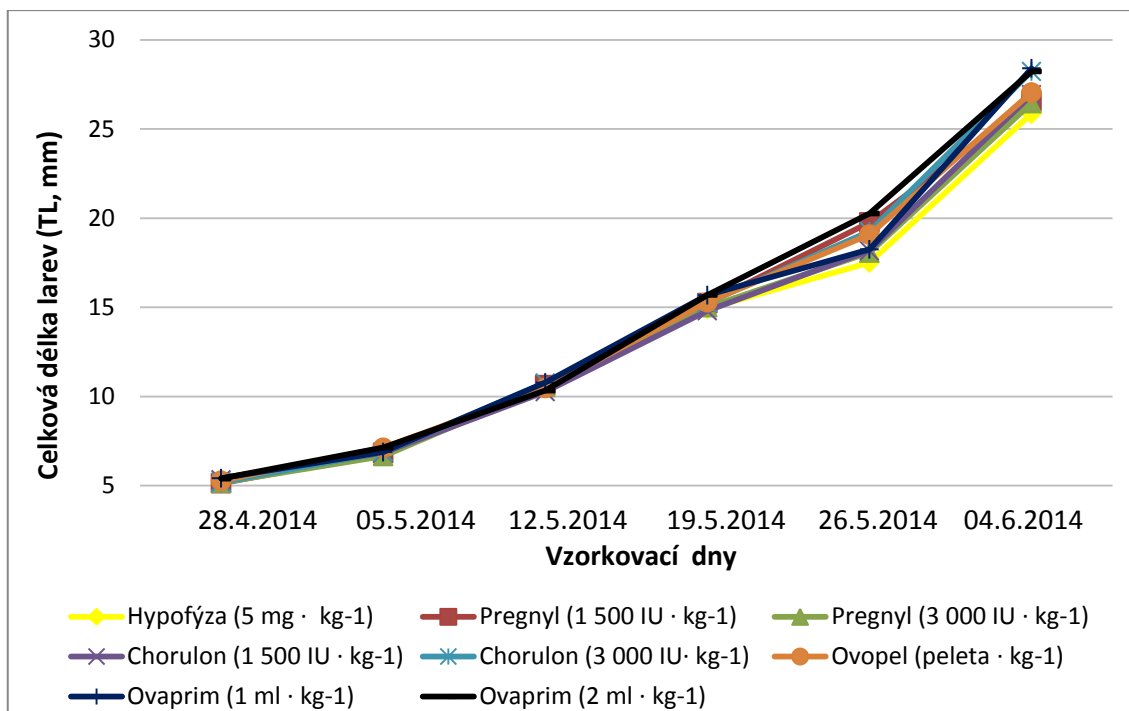


Graf 6: Celkové přežívání piskoře pruhované (*Misgurnus fossilis*) od nasazení jiker do konce pokusu, vyjádřeno v procentech (průměr \pm S. D.) z celkové sumy nasazených jiker pro jednotlivé experimentální skupiny. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b, c, d, e) se od sebe statisticky průkazně neliší (Test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny, $P < 0,05$).

5.4. MORFOMETRIE LAREV

5.4.1. Růst larev

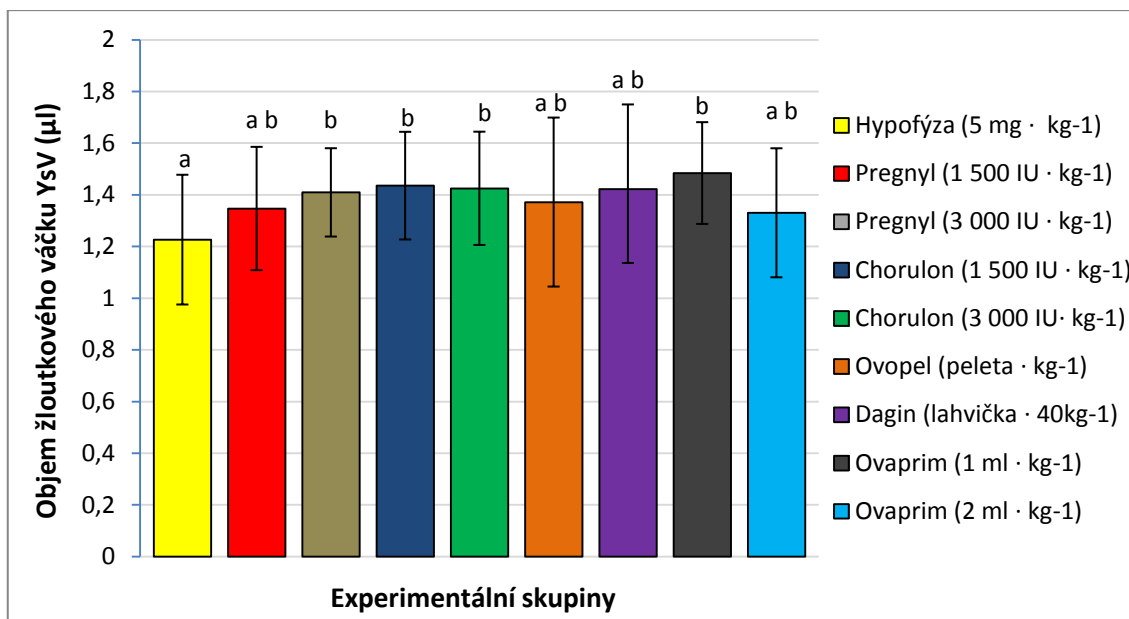
Růst larev (celková délka těla, TL; mm) během experimentálního období (1. až 36. den) zachycuje graf 6. Larvy při nasazení do experimentu dosahovaly průměrné délky od 5,14 mm do 5,41 mm a při ukončení pokusu bylo dosaženo průměrné délky larev od 25,86 mm do 28,41 mm. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami nebyl nalezen z hlediska růstu statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 400) = 78,37380$, $p = 0,00$] - viz graf 7.



Graf 7: Růst (celková délka těla, TL; mm) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) od vykolení po konec pokusu (1. až 36. den po vykolení) pro jednotlivé experimentální skupiny.

5.4.2. Objem žloutkového vřáku

Objem žloutkového vřáku larev po nasazení do experimentálního pokusu nabýval hodnot od 1,23 μl do 1,48 μl . Mezi jednotlivými skupinami z hlediska objemu žloutkového vřáku byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl [ANOVA test: $F(8, 400) = 4,328$; $P = 0,00$] - viz graf 8. Nejvyšší průměrná hodnota objemu žloutkového vřáku ($1,48 \pm 0,20 \mu\text{l}$) byla zaznamenána při použití hormonálního ošetření pomocí preparátu Ovaprim v dávce $1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$. Tato skupina se však statisticky liší od skupiny injikovaná kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola), u které byla zaznamenána nejnižší hodnota objemu žloutkového vřáku ($1,23 \pm 0,25 \mu\text{l}$). Statisticky průkazně se dále od kontrolní skupiny lišily skupiny Pregnyl $3\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($1,41 \pm 0,17 \mu\text{l}$), Chorulon $1\,500 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($1,44 \pm 0,21 \mu\text{l}$), Chorulon $3\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($1,42 \pm 0,22 \mu\text{l}$).



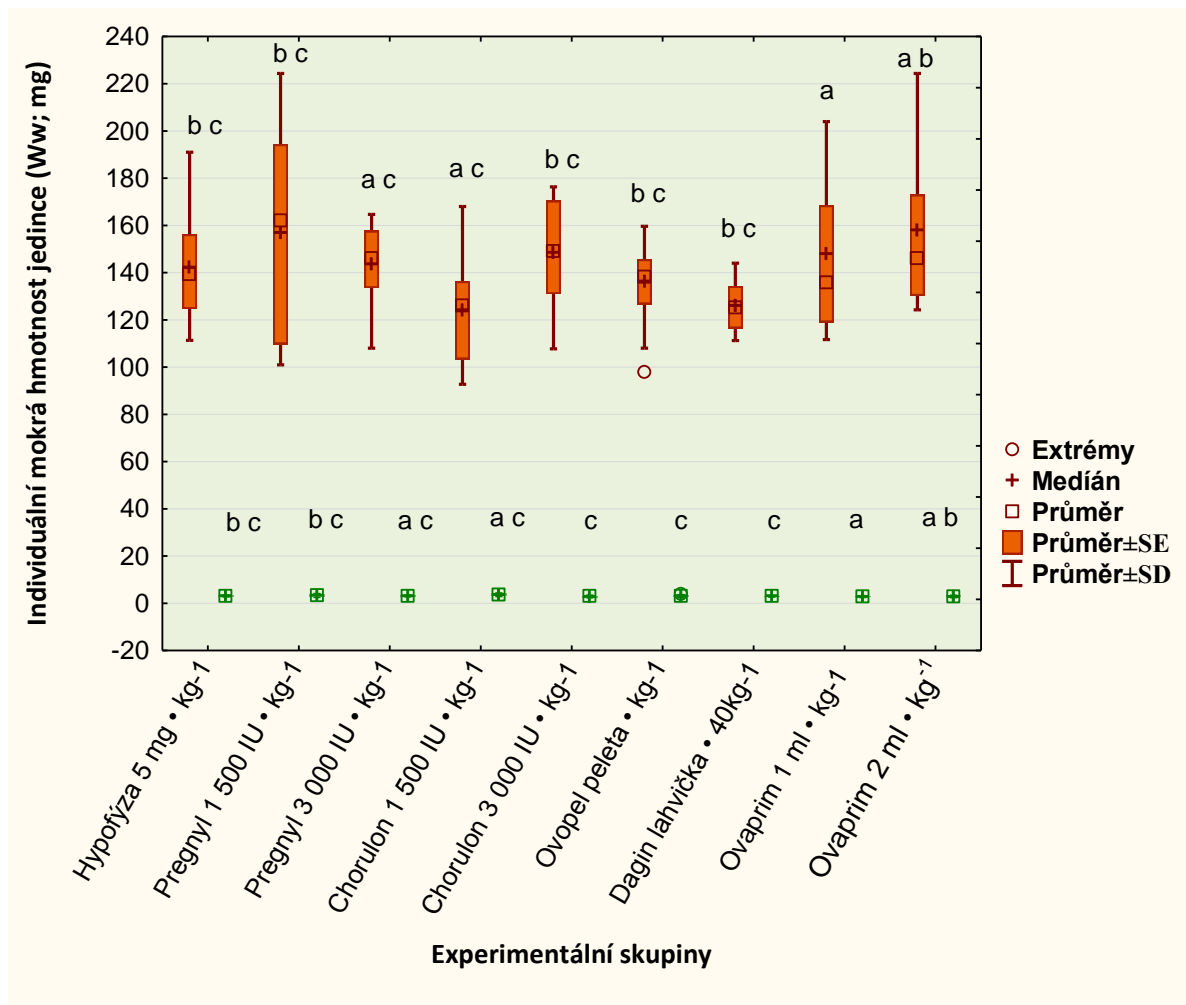
Graf 8: Objem žloutkového váčku (YsV, průměr ± S. D.; µl) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po nasazení do pokusu pro jednotlivé experimentální skupiny. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b) se od sebe statisticky průkazně neliší Tukey HSD test.

5.5. GRAVIMETRIE LAREV

5.5.1. Individuální mokrá hmotnost larev

Hodnoty individuální mokré hmotnosti larev (W_w) při nasazení do experimentálního odchovu (28.4.2014) se pohybovaly v rozmezí od 2,74 mg do 3,25 mg. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl z hlediska individuální mokré hmotnosti larev nalezen statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 132) = 43,24817, p = 0,000$] – viz graf 9. Největší individuální mokrá hmotnost larev ($3,13 \pm 0,49$ mg) srovnatelná se skupinou injikovanou kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola) byla zaznamenána u skupiny ošetřené hormonálním přípravkem Pregnyl v dávce $1\,500\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Hodnoty individuální mokré hmotnosti larev při ukončení experimentálního odchovu (4.6.2014) se pohybovaly v rozmezí od 125,92 mg do 162,53 mg. Mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl z hlediska individuální mokré hmotnosti larev nalezen statisticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 132) = 21,36003, p = 0,0063$] – viz graf 9. Největší individuální mokrá hmotnost larev ($151,35 \pm 51,8$ mg) srovnatelná se skupinou injikovanou kapří hypofýzou (skupina použitá jako pozitivní kontrola) byla zaznamenána též u skupiny ošetřené hormonálním přípravkem Pregnyl v dávce $1\,500\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$.



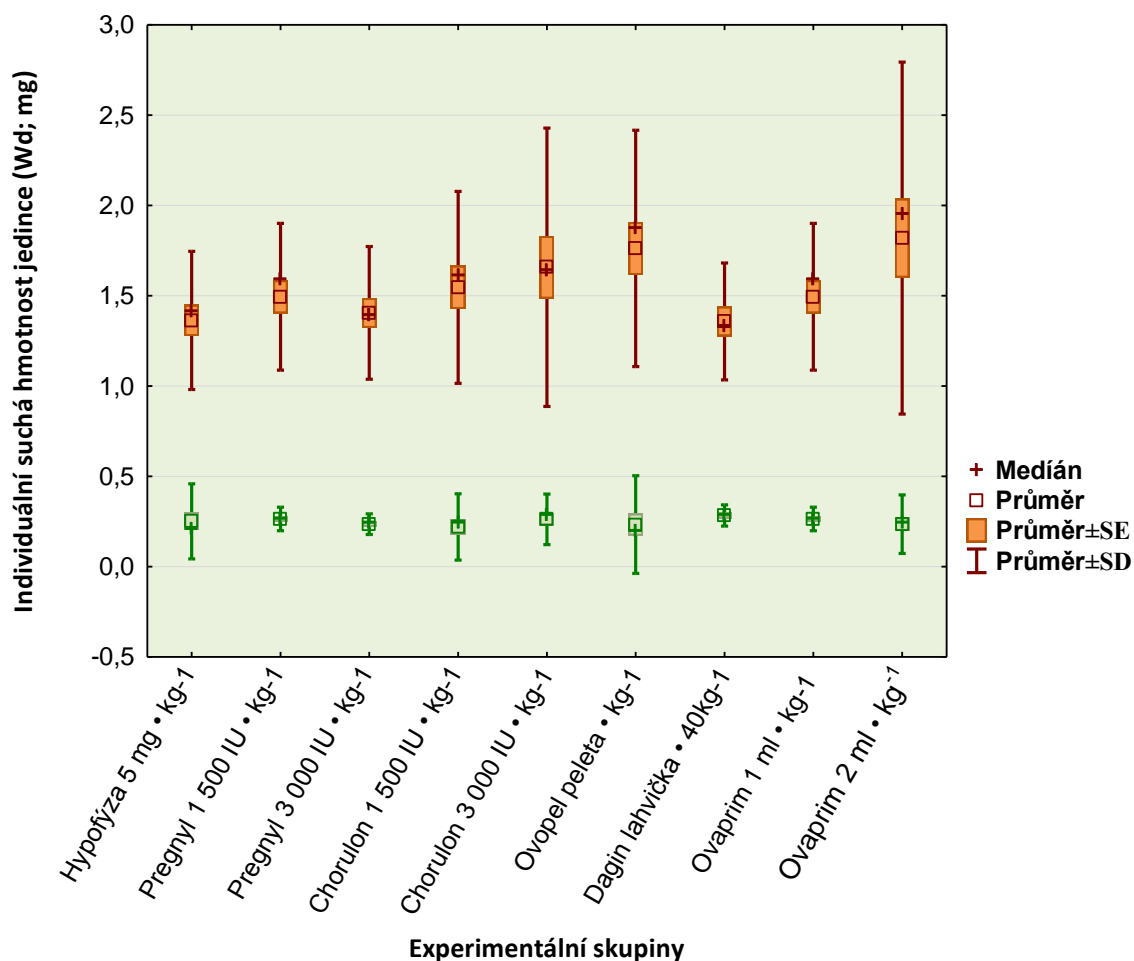
Graf 9: Individuální mokrá hmotnost (Ww, průměr ± S. D.; mg) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po nasazení do pokusu (zelené body) a po ukončení pokusu (červené body) pro jednotlivé experimentální skupiny. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b, c) se od sebe statisticky průkazně neliší (Test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny, $P < 0,05$).

5.5.2. Individuální suchá hmotnost larev

Hodnoty individuální suché hmotnosti larev (Wd) při nasazení do experimentálního odchovu se pohybovaly v rozmezí od 0,19 mg do 0,26 mg. Statisticky průkazný rozdíl v individuální suché hmotnosti larev mezi jednotlivými skupinami při nasazení nebyl prokázán [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 44) = 5,257285, p = 0,7298$] – viz graf 10. Největší individuální suchá hmotnost larev ($0,28 \pm 0,02$ mg) při nasazení byla zaznamenána u skupiny ošetřené hormonálním přípravkem Dagin.

Hodnoty individuální suché hmotnosti larev při ukončení experimentálního odchovu se pohybovaly v rozmezí od 1,37 mg do 1,76 mg. Statisticky průkazný rozdíl v individuální suché hmotnosti larev mezi jednotlivými skupinami při nasazení nebyl

prokázán [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 44) = 5,257285, p = 0,7298$] – viz graf 10. Nejvyšší individuální suchá hmotnost larev ($1,77 \pm 0,49$ mg) při ukončení pokusu byla zaznamenána u skupiny ošetřené preparátem Ovaprim v dávce $2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$.



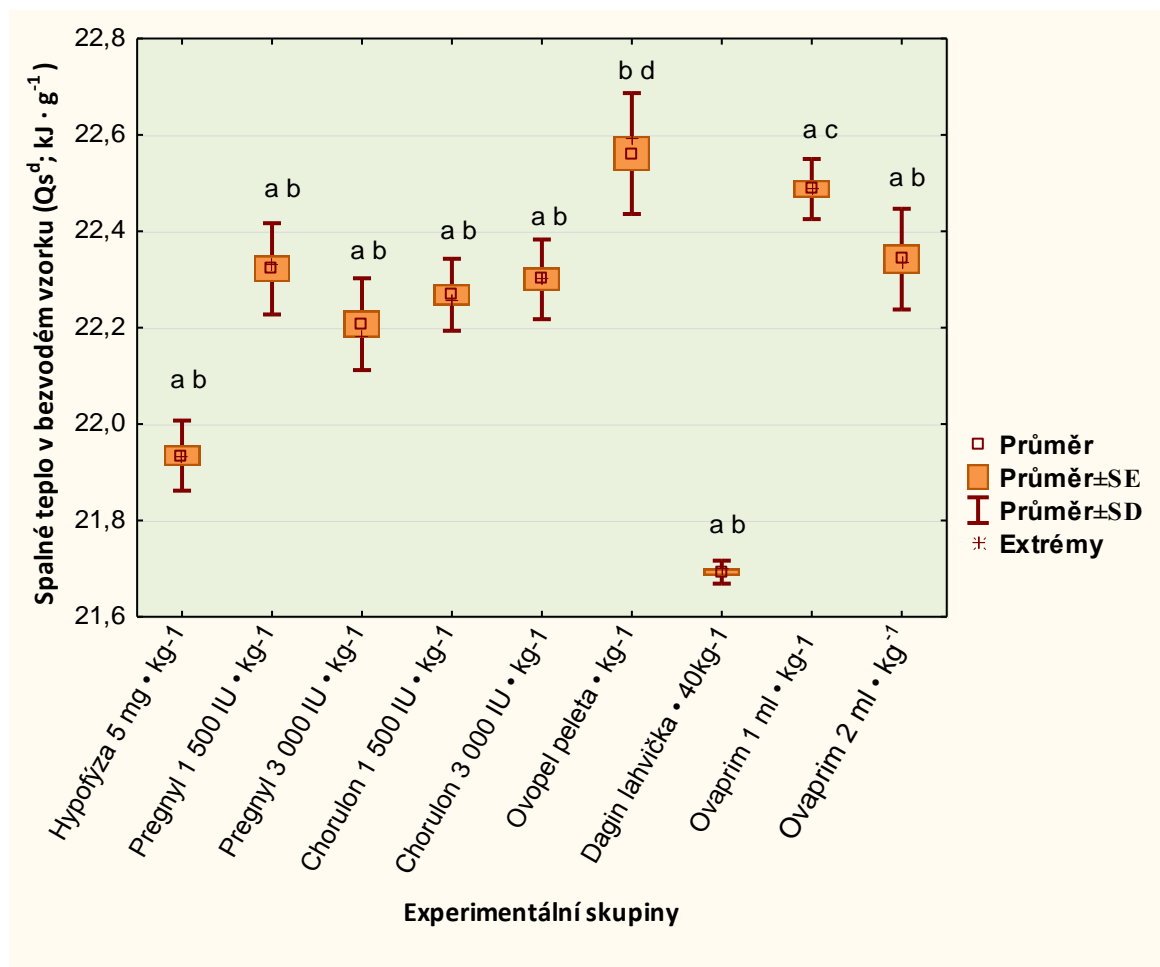
Graf 10: Individuální suchá hmotnost (W_w , průměr \pm S. D.; mg) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po nasazení do pokusu (zelené body) a po ukončení pokusu (červené body) pro jednotlivé experimentální skupiny.

5.6. ENERGETICKÁ A PRVKOVÁ ANALÝZA

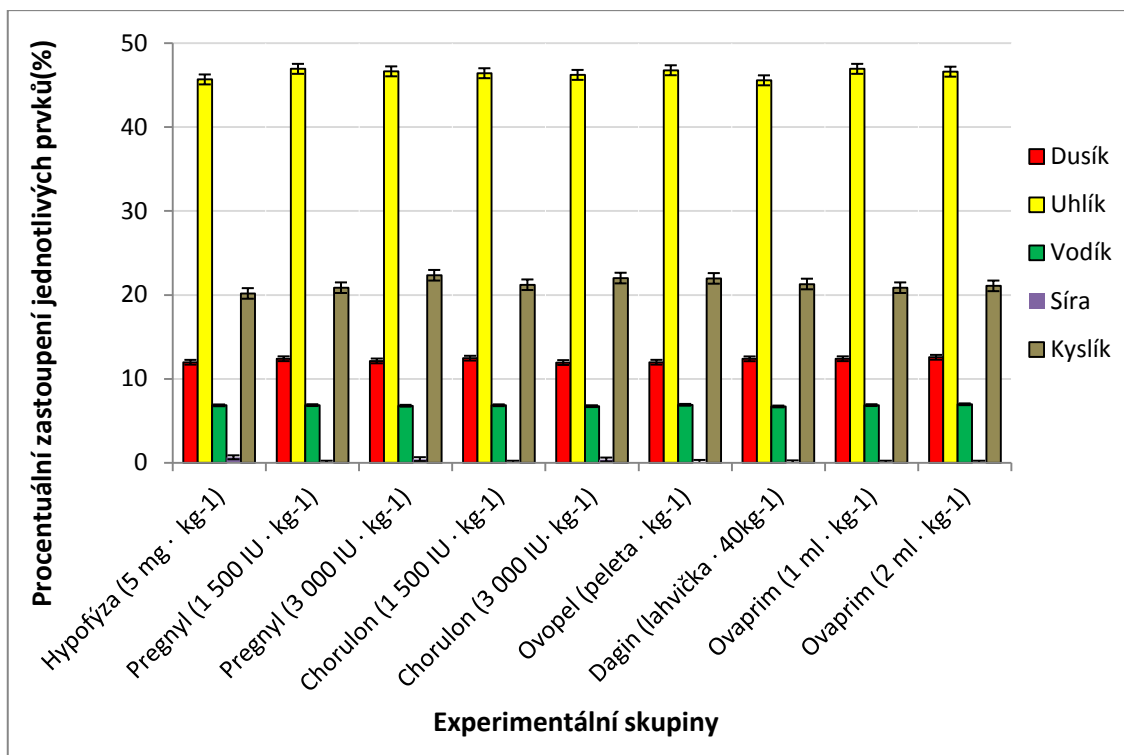
Množství energie deponované do tělních tkání larev (měřené po ukončení pokusu jako spalné teplo v bezvodém vzorku; $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) dosahovalo rozmezí od $21,69 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ do $22,49 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Pro tento parametr byl mezi jednotlivými experimentálními skupinami prokázán staticky průkazný rozdíl [Kruskal - Wallis test: $H(8, N = 27) = 23,83466, p = 0,0024$] – viz graf 11. Nejvyšší hodnota spalného tepla ($22,56 \pm 0,05 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) byla zaznamenána u skupiny ošetřené hormonálním přípravkem Ovopel naopak nejnižší hodnota spalného tepla byla zaznamenána u skupiny ošetřené přípravkem

Dagin ($21,67 \pm 0,01$). Experimentální skupiny se z hlediska energetické analýzy ve srovnání s kontrolou statisticky průkazně nelišily, statistický rozdíl byl nalezen mezi skupinami ošetřenými hormonálními přípravky Ovopel a Dagin.

Analýza prvkového složení (hlavní makrobiogenní prvky - C, H, N, S, O) vzorků larev v bezvodém stavu pro jednotlivé experimentální skupiny je uvedena v grafu 12. Mezi jednotlivými skupinami z hlediska analýzy hlavních makrobiogenních prvků (C, H, N, S, O) nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl [Kruskal-Wallisův test: $H(8, N=27) = 24,13422$ $p = 0,0022$]. Průměrné prvkové složení těl larev na konci pokusu: dusík – $12,23 \pm 0,28$ %, uhlík – $46,30 \pm 0,59$ %, vodík – $6,83 \pm 0,11$ %, síra – $0,18, 0,23$ %, kyslík – $21,35 \pm 0,63$ (průměr \pm S. D; v rámci všech skupin).



Graf 11: Spalné teplo v bezvodém vzorku (Q_s^d , průměr \pm S. D.; $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) na konci pokusu. Skupiny označené stejnými malými písmeny (a, b, c) se od sebe statisticky průkazně neliší (Test mnohonásobného porovnávání středních hodnot pro všechny skupiny, $P < 0,05$).



Graf 12: Prvková analýza (průměr ± S. D.; %) hlavních makrobiogenních prvků (dusík, uhlík, vodík, síra, kyslík) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) na konci pokusu.

6. DISKUZE

V diplomové práci byl studován vliv vybraných komerčně dostupných hormonálních preparátů použitých při řízené reprodukci na produkci plůdku piskoře pruhovaného v umělých podmínkách s cílem posoudit tak vhodnost jednotlivých preparátů při hormonálně indukované reprodukci piskoře pruhovaného a nahradit tak nestandardizované používání homogenitu kapří hypofýzy.

K hormonální stimulaci ovulace generačních ryb piskoře pruhovaného byly použity hormonální preparáty na bázi hCG (Pregnyl, Chorulon) a dále preparáty na bázi syntetického analogu GnRH s inhibítorem dopaminu (Ovopel, Dagin, Ovaprin), které byly srovnávané s pozitivní kontrolou (homogenizovaná kapří hypofýza).

V první řadě byl hodnocen dopad aplikovaných hormonálních ošetření na líhivost larev. Rozdílnost mezi skupinami preparátů na bázi hCG a GnRH-a s inhibítorem dopaminu při porovnání míry líhivosti nebyla nalezena. Průměrná míra líhivosti se pohybovala v rozmezí od 65 % do 94 %. Stejný poznatek uvádí autoři Wang a kol. (2009a) ve své studii, při které hodnotili líhivost larev u příbuzného druhu (piskoř dálnovýchodní), u kterého se pohybovala líhivost v rozmezí od 77 % do 92,3 %. Velké rozdíly v líhivosti byly zaznamenány jednak mezi použitými preparáty a dále i mezi aplikovanými dávkami. Nejvýznamnější rozdíl v líhivosti larev v rámci aplikované dávky hormonálního preparátu byl zaznamenán u přípravku na bázi hCG (Pregnyl). U skupiny ošetřené dávkou $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ byla zaznamenána nejvyšší hodnota líhivosti larev ($93,31 \pm 3,81\%$) a naopak nejnižší hodnotu líhivosti ($65,20 \pm 22,4\%$) vykazovala skupina ošetřená poloviční dávkou ($1\,500\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$). Autoři Sahoo a kol. (2006), kteří se zabývali posuzováním líhivosti a kvality larev u keříčkovce žabího (*Clarias batrachus*, Linnaeus 1758), zjistili při aplikaci hCG podobný jev. Nejvyšší líhivosti larev (68 – 78 %) dosáhli při aplikaci vyšších dávek hCG na úrovni 3 000 – 5 000 $\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Uvádí, že tento jev je zapříčiněn nedostatečnou připraveností generačních ryb vlivem nízké dávky, což má za následek snížení kvality pohlavních produktů (jiker).

V DP byla dále posuzována míra přežívání larev v prvním měsíci života v závislosti na použitém hormonálním preparátu a velikosti dávky. Autoři Avery a kol. (2003) uvádí, že už samotná aplikace hormonálních přípravků na rozdíl od přirozené stimulace ovulace vlivem úpravy environmentálních faktorů snižuje kvalitu larev a násadového materiálu s následným snížením míry životaschopnosti larev. Ve svém

experimentu dosáhli při spontánní ovulaci generačních ryb platýze zlatého (*Limanda ferruginea*, Storer 1839) vyšší míry životaschopnosti larev $61,2 \pm 17,1$ %. Naproti tomu při použití hormonální stimulace (GnRH-a) se míra životaschopnosti snížila na hodnotu $46 \pm 28,5$ %. Stejný jev zaznamenal Krišťan (2009). Při reprodukci candáta obecného (*Sander lucioperca*, Linnaeus 1758) uvádí, že plůdek získaný hormonálně stimulovanou ovulací vykazoval v embryonální periodě sníženou míru přežívání o 10 % ve srovnání s plůdkem získaným bez hormonální stimulace ovulace. Uvedené tvrzení se však v diplomové práci nepotvrdilo z důvodu, že samice, které byly ošetřeny pouze fyziologickým roztokem ($0,2 \text{ ml} \cdot \text{ks}^{-1}$), neovulovaly a nebylo je tedy možné reprodukovat a posoudit kvalitu a míru přežívání larev. U hormonálně ošetřených skupin byla zaznamenána následná míra přežívání larev v rozmezí 52 % do 81 %. Autoři Keckeis a kol. (2011) uvádí za nejdůležitější parametr ovlivňující míru přežívání vylíhlých larev velikost jiker a jejich biochemické složení. V diplomové práci byl porovnáván vliv hormonálních přípravků na bázi hCG vs. GnRH-a a také optimální dávka aplikované dávky. Statisticky významný rozdíl v životaschopnosti larev při použití preparátů na bázi hCG oproti preparátům obsahujících GnRH-a nebyl nalezen. Nejvyšší míra přežívání larev ($77,8 \pm 11,3$ %) srovnatelná s kontrolní skupinou (Hypofýza $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) byla zaznamenána při použití hormonálního ošetření pomocí preparátu Pregnyl (hCG) v dávce $3\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Aplikace poloviční dávky Pregnylu ($1\,500 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$) se projevila jako méně účinná s mírou přežívání $68,55 \pm 8,67$ %, statistický rozdíl však nebyl prokázán. DiMaggio a kol. (2013) udává, že vyšší dávky hCG mají příznivější dopad na kvalitu a míru přežívání. Toto tvrzení potvrzuje svým experimentem, ve kterém generačním rybám (*Lagodon rhomboides*, Linnaeus 1766) aplikoval čtyři různé dávky hCG (500, 1000, 2000, a $4000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$), za nejúčinnější ošetření z hlediska zmíněných parametrů označil dávku $4000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Podobný jev popisují i autoři Sahoo a kol. (2007), kteří uvádějí, že vyšší dávky hCG ($3\,000 - 5\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$) zvyšují procento přežívání larev. Velmi vysoké dávky hCG ($15\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$) používal při umělé, úspěšné, reprodukci piskoře dálnovýchodního také (Gao a kol., 2014). Oproti tomu Mylonas a Zohar (2001) uvádějí, že vysoké dávky hormonálních preparátů mohou způsobit předávkování, které má negativní dopad na kvalitu jiker a na životaschopnost a kvalitu larev. V extrémních případech může také dojít ke smrti generačních ryb. Účinnost nízkých dávek hCG ($1\,000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$) potvrdili autoři Targońska a Kucharczyk (2011) při umělé reprodukci karase zlatého (*Carassius auratus auratus*, Linnaeus 1758), při které zaznamenali 87 % míru přežívání larev.

Objem žloutkového vřčku larev je podle autora Galloway a kol. (1998) jedním ze základních ukazatelů určujících kvalitu plůdka. Objem žloutkového vřčku larev při nasazení do experimentálního pokusu (den = 0) nabýval hodnot od 1,23 μl do 1,48 μl . Všechny experimentální skupiny vykazovaly vyšší hodnotu objemu žloutkového vřčku než kontrola. Nejvyšší hodnoty objemu žloutkového vřčku byly v rámci pokusu uskutečněného v rámci DP zaznamenány u skupin ošetřených kombinovanými hormonálními přípravky (Ovaprim - 1 ml \cdot kg⁻¹, Dagin - lahvička \cdot 40 kg⁻¹) a přípravky na bázi hCG (Chorulon - 1 500 IU \cdot kg⁻¹ a 3 000 IU \cdot kg⁻¹, Pregnyl - 3 000 IU \cdot kg⁻¹). Peňáz (2000) konstatuje, že velikost larev je přímo úměrná objemu žloutkového vřčku a dále uvádí, že velikost žloutkového vřčku je jedním z hlavních aspektů ovlivňujících časový interval přechodu z endogenní na exogenní výživu.

V diplomové práci byl dále hodnocen růst larev (morfologie a gravimetrie) v závislosti na použitém hormonálním ošetření a dávce aplikovaného preparátu. Podle autora Lam (1994) je ovlivňován růst larev hormony, které se přenášejí do jiker z generačních ryb už při tvorbě zárodečného žloutku (vitelogeneze) a také hormony přijatými z vnějšího prostředí v rámci stimulace ovulace ryb. V experimentu nebylo však toto tvrzení potvrzeno. Mezi jednotlivými skupinami ošetřenými různými preparáty na bázi hCG a GnRH-a nebyl nalezen statisticky prokazatelný rozdíl v růstu larev (celková délka těla, TL; mm). Larvy dosahovaly při nasazení do pokusu (den = 0) průměrné délky od 5,14 mm do 5,41 mm a hmotnosti od 2,74 mg do 3,25 mg (mokrý hmotnost larev; Ww). Při ukončení pokusu (38. den) dosahovaly larvy celkové délky od 25,86 mm do 28,41 mm a hmotnosti 125,92 mg do 162,53 mg (mokrý hmotnost larev; Ww). Růstová schopnost piskoře pruhovaného (zjištěná v rámci DP) experimentu s dobou trvání 38 dní je zcela srovnatelná s růstovou schopností zjištěnou u příbuzného druhu (piskoře dálnovýchodního) Wangem a kol. (2009b). Tito autoři uvádějí, že larvy odchovávané do stáří 35 dní (při teplotě vody 23 – 25 °C) dosahují celkové délky těla v rozmezí od 23 mm do 28 mm. Největší mokrý hmotnost larev při ukončení experimentu (151,35 \pm 51,8 mg) byla zaznamenána u skupiny ošetřené hormonálním přípravkem Pregnyl v dávce 1 500 IU \cdot kg⁻¹. Důvodem této, oproti ostatním experimentálním skupinám, zvýšené vysoké hmotnosti larev bylo pravděpodobně to, že v průběhu experimentu došlo u zmíněné skupiny k vysokým početním ztrátám. Snížená obsádka tak lépe využívala předkládanou potravu, a to se následně projevilo zvýšením individuální hmotnosti, tj. rychlejším růstem. Nelze tedy přikládat váhu typu použitého hormonálního ošetření. Dále byla hodnocena suchá hmotnost larev (Wd) a to jak při

nasazení tak i při ukončení experimentu. Statistický rozdíl však v rámci jednotlivých skupin při nasazení a ukončení nebyl nalezen.

Výsledky energetické analýzy těl larev (hodnoty spalného tepla) prokazují statistickou rozdílnost v rámci jednotlivých skupin. Larvy ošetřené preparáty na bázi hCG vykazovaly srovnatelné hodnoty v porovnání s kontrolní skupinou (Hypofýza 5 mg · kg). Významný statistický rozdíl se projevil u skupin ošetřených preparáty na bázi GnRH-a, a to především u preparátu Ovopel, u kterého byla dosažena nejvyšší hodnota deponované energie v tělních tkáních ($22,56 \pm 0,05 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$). Naopak přípravek Dagin se z hlediska deponované energie projevil jako méně účinný ($22,93 \pm 0,03 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$). Získané hodnoty spalného tepla jsou ve stejných řádech, které uvádí Prokešová (2012) pro larvy keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) při přechodu na exogenní výživu.

Prvková analýza (procentuální zastoupení hlavní makrobiogenní prvky - C, H, N, S, O) těl larev v bezvodém stavu na konci pokusu (stáří 38 dní) nepotvrdila statistický průkazný rozdíl v zastoupení jednotlivých prvků mezi jednotlivými experimentálními skupinami. Nelze tedy usuzovat, zda hormonální stimulace ovlivňuje složení těl vylíhlých jedinců. Kamler a kol. (1994) uvádí, že obsah jednotlivých makrobiogenních prvků se mění v závislosti na stáří jedince. Nejvýznamnější rozdíl je zaznamenán v obsahu uhlíku. Nejvyšší obsah C je v jikrách a směrem s postupujícím ontogenetickým vývojem postupně klesá. Naopak obsah deponované síry postupně stoupá. Larvy po přechodu na exogenní výživu vykazují ve srovnání s vylíhlými larvami vyšší obsah síry v rozmezí od 0,3 do 0,7 %. V diplomové práci bylo zjištěno následující prvkové složení larev piskoře pruhovaného na konci pokusu: C – $46,30 \pm 0,59 \%$, N – $12,23 \pm 0,28 \%$, H – $6,83 \pm 0,11 \%$, S – $0,18 \pm 0,23 \%$, O – $21,35 \pm 0,63$. Stejně hodnoty v obsahu uhlíku (47,04 %), dusíku (11,81 %), vodíku (7,43 %), síry (0,32 %) a kyslíku (22,88 %) uvádí Kamler a kol. (1994) ve své studii na larvách keříčkovce červenolemého.

7. ZÁVĚR

- 1) V diplomové práci bylo zjištěno, že použití různých hormonálních preparátů a velikost jejich dávek při řízené reprodukci piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) může do jisté míry ovlivnit míru líhnivosti larev, míru přežívání larev, velikost žloutkového vřívku a množství energie deponované do tělních tkání larev.
- 2) Nejvyšší míru líhnivosti larev piskoře pruhovaného vykazovaly experimentální skupiny ošetřené vyššími dávkami hormonálních přípravků na bázi hCG (Pregnyl 3 000 IU · kg⁻¹ a Chorulon 3000 IU · kg⁻¹). Statisticky srovnatelné hodnoty líhnivosti byly zaznamenány i při aplikaci přípravků na bázi GnRH-a (Dagin a Ovopel).
- 3) Z hlediska celkové míry přežívání larev (od nasazení jiker do ukončení pokusu) piskoře pruhovaného se nejvíce osvědčily hormonální preparáty Pregnyl 3 000 IU · kg⁻¹ (hCG) a Dagin (GnRH-a).
- 4) Nejvyšší objem žloutkového vřívku larev piskoře pruhovaného (YsV; μl) byl zaznamenán u skupin ošetřených hormonálními preparáty Ovaprim 1 ml · kg⁻¹ (GnRH-a), Pregnyl 3 000 IU · kg⁻¹, Chorulon 1 500 IU · kg⁻¹ a 3000 IU · kg⁻¹ (hCG).
- 5) U piskoře pruhovaného nebyla prokázána závislost mezi použitým hormonálním ošetřením a růstem vylíhlých larev (z hlediska dosažené celkové délky těla) či jejich hmotnosti (z hlediska dosažené suché hmotnosti).
- 6) Z hlediska množství energie deponované do tělních tkání larev (spalné teplo) lze označit všechny hormonální preparáty za srovnatelné, kromě preparátu Dagin, u kterého byla zaznamenána nízká hodnota spalného tepla.
- 7) Analýza prvkového složení (C, H, N, S, O) vzorků larev v bezvodém stavu neprokázala rozdílnost v zastoupení jednotlivých makrobiogenních prvků v závislosti na použitém hormonálním ošetření.
- 8) Za nejvhodnější, nejefektivnější hormonální preparát nahrazující homogenát kapří hypofýzy z hlediska posuzovaných ukazatelů lze označit přípravek na bázi hCG, a tím je Pregnyl v dávce 3 000 IU · kg⁻¹.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Adamkova-Stibranyiova, I., Adamek, Z., Sutovsky, I., 1999.** A comparative study on the induced spawning in female loach (*Misgurnus fossilis*) by means of single and double pituitary injection technique. Czech Journal of Animal Science 44, 403 – 407 s.
- Avery, S.T., Boynce, D., Brown, J. A., 2003.** Mortality of yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* (Storer), eggs: effects of temperature and hormone-induced ovulation. Aquaculture 230, 297 – 311 s.
- Barbaro, A., Francescon, A., Bozzato, G., Merlin, A., Belvedere, P., Colombo, L., 1997.** Induction of spawning in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., by a long - acting GnRH agonist and its effects on egg quality and daily timing of spawning. Aquaculture 154, 349 – 359 s.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995.** Mihulovci (Petromyzontes) a Ryby (Osteichthyes) (2). Fauna ČR a SR. ACADEMIA, nakladatelství AVČR, 1. vydání, Praha, 288 – 291 s.
- Berg, L.S., 1962.** Freshwater Fishes of the USSR and Adjacent Countries. In: Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S. G., Shin, P. K. S., Song, L., 2009. Effects of GnRH α (D-Ala 6 , Pro 9 -NET) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Aquaculture 291, 136 – 139 s.
- Blaxter, J.H.S., Hempel, G. (1963)** The influence the egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer, 28, 211 – 240 s.
- Bogut, I., Novoselic, D., Pavličević, J., 2006.** Biologija riba. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 317 – 318 s.
- Brzuska, E., 2005.** Artificial propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*): differences between reproduction effects after stimulation of ovulation with carp pituitary homogenate or GnRH-a and dopaminergic inhibitor. Czech Journal of Animal Science 48, 181 – 190 s.
- DiMaggio, M.A., Broach, J.S., Ohs, C.L., 2013.** Evaluation of Ovaprim and human chorionic gonadotropin doses on spawning induction and egg and larval quality of pinfish, *Lagodon rhomboides*. Aquaculture 414 – 415, 9 – 18 s.
- Drozd, B., Bláha, M., 2011.** Food composition of weatherfish (*Misgurnus fossilis*) larvae and juveniles from natural habitat. In: Blaha, M., Dvorakova, Z., Policar, T. (Eds.): Diversification in Inland Finfish Aquaculture (DIFA), 16th–18th May 2011, Pisek, Czech Republic, p. 136
- Drozd. B., Kouřil, J., Bláha, M., Hamáčková, J., 2009.** Effect of temperature on early life history in weatherfish, *Misgurnus fossilis* (L. 1758). Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 4, 392 – 409 s.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003.** Obecné rybářství. Informatorium, Praha, 308 s.

- Dvořák, P., Pyszko, M., Velíšek, J., Dvořáková Lišková, Z., Andreji, J., 2014.** Anatomie a fyziologie ryb. FROV JU, Vodňany, 189 s.
- Dyk, V., Podubský, V., Štědranský E., 1959.** ABC Rybáře. ROH, Praha, 182 s.
- Fujimoto, Y., Ouchi, Y., Hakuba, T., Chiba, H., Iwata, M., 2008.** Influence of modern irrigation, drainage system and water management on spawning migration of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* C. Environmental Biology of Fishes 81, 185 – 194 s.
- Fusko, M., 1987.** Zur Biologie des Schlammpeitzgers (*Misgurnus fossilis* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Darmatmung. Ph.D. Thesis, University of Vienna, Vienna. 172 s.
- Galloway, T.F., Kjorsvik, E. Kryvi, H., 1998.** Effect of temperature on viability and axial muscle development in embryos and yolk sac larvae of the Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). Marine Biology 132, 559 – 567 s.
- Gao, J., Koshio, S., Wang, W., Li, Y., Huang, S., Cao, X., 2014.** Effects of dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant responses of Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae. Aquaculture 426 – 427, 304 – 309 s.
- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009.** Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus Carpio* L.). Edice metodik FROV JU Vodňany, č. 99, 12 – 23 s.
- Gerstmeier, R., Romig, T., 2003.** Sladkovodní ryby Evropy. Víkend, Praha, 300 – 302 s.
- Hanel, L., 1992.** Poznáváme naše ryby. Zemědělské nakladatelství Brázda, Praha, 180 s.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005.** Ryby a mihule České republiky rozšíření a ochrana. Český svaz ochránců. Přírody Vlašim, Vlašim, 287 – 289 s.
- Hartvich, P., Lusk, S., Rutkayová, J., 2009.** Threatened fishes of the world: *Misgurnus fossilis* (Linnaeus, 1758) (Cobitidae). Environ Biol Fish. 87, 39 – 40 s.
- Horváth, L., Szabó, T., Burke, J., 1997.** Hatchery testing of GnRH analogucontaining pellets on ovulation in four cyprinid species. Polish Archives of Hydrobiology 44, 221 – 226 s.
- Kamler, E., Slamińska, M., Kuczyński, M., Hamáčková, J., Kouřil, J., Dabrowski, R. 1994.** Temperature-induced changes of early development and yolk utilization in the African catfish *Clarias gariepinus*. Journal of Fish Biology 44, 311 – 326 s.
- Keckeis, H., Bauer-Nemeschkal, E., Menshutkin, V.V., Nemeschkal, H.L., Kamler E., 2011.** Effects of female attributes and egg properties on offspring viability in a rheophilic cyprinid, *Chondrostoma nasus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 57, 789 - 796 s.
- Kim, H.C., Soon, M., Yu, H.S., 1994.** Biological control of vector mosquitos by the use of fish predators, *Moroco oxycephalus* and *Misgurnus anguillicaudatus* in the laborator and semi-field rice paddy. Korean Journal of Entomolgy 24, 269 – 284 s.

- Kottelat, M., Freyhof, J.,** 2007. Handbook of European freshwater fishes. Cornol Publications, Kottelat, 319 – 320 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Barthová, J.,** 1999. Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čistého extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik VÚRH JU, Vodňany, č. 61, 2 – 4 s.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Policar, T., Kříšťan, J., Drozd, B.,** 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízené reprodukci vybraných hospodářsky významných teplomilných druhů ryb. Edice metodik, FROV JU Vodňany, č. 120, 10 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Adámek, J., Sukop, I., Stibranylová, I., Vachta, R.,** 1996. The artificial propagation and culture of young weatherfish (*Misgurnus fossilis*, L.). Advances in Life Sciences, 305 – 310 s.
- Kříšťan, J.,** 2009. Umělý a poloumělý výtěr candáta obecného (*Stizostedion lucioperca*). České Budějovice, 2009. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra rybářství a myslivosti.
- Kůs, E.,** 1999. Ryby. Aventinum, Praha, 95 s.
- Lam, J.T.,** 1994. Hormones and Egg/Larval Quality in Fish. Journal of the World Aquaculture Society 25, 2 – 12 s.
- Lam, T.J.,** 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Can. J. Fisheries and Aquatic Sciences 39, 11 – 137 s.
- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M.,** 2000. Umělý výtěr lina obecného s využití enzymu při odlepkování jiker. Edice metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 63, 1 – 14 s.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M.,** 2001. Umělá reprodukce sumce velkého (*Silurus glanis* L.) s použitím enzymu k odlepkování jiker. Edice metodik, VÚRH, Vodňany, č 70, 1 - 15 s.
- Liu, X.H.,** 2008. Biological characteristics and cultivation of loach. Hubei Agric. Sci. 47, 93 – 95. In: Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S.G., Shin, P.K.S., Song, L., 2009. Effects of GnRH α (D-Ala6, Pro9-NET) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Aquaculture 291, 136 – 139 s.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J.** 1992. Ryby v našich vodách. Československá akademie věd, Praha, 185 – 186 s.
- Lusk, S., Lusková, V., Hanel, L., Lojkásek, B., Hartvich, P.,** 2011. Biodiverzita ichtyofauny ČR (VIII). Červený seznam mihulí a ryb České republiky – verze 2010., 68 – 78 s.
- Meyer, L., Hinrichs, D.,** 2000. Microhabitat preferences and movements of the weatherfish, *Misgurnus fossilis*, in a drainage channel. Environmental Biology of Fishes 58, 297 – 306 s.
- Müller, H.,** 1987. Fische Europas. Neumann Vlg., Lipsko, 195 – 196 s.

- Mylonas, C.C., Zohar, Y.,** 2001. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10, 463–491.
- Ohta, H., Tanaka, H.,** 1997. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin β hCG. And 11-ketotestosterone after a single injection of hCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 153, 123 – 134 s.
- Peňáz, M.,** 2000. Towards classification and terminology of early life history stages in fishes (Jak v klasifikaci a terminologii raných vývojových stádií ryb). In: Mikešová, J. (Ed.) Sborník referátů z IV. České ichtyologické konference, JU v ČB VÚRH ve Vodňanech, 243 – 248 s.
- Pokorný, J., Lucký, Z., Lusk, S., Pohunek, M., Jurák, M., Štědronský, E., Prášil, O.,** 2004. Velký encyklopedický rybářský slovník. Faus, Plzeň, 282 s.
- Polícar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V.,** 2011. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 110, 46 s.
- Prokešová, M.,** 2012. Vliv teploty vody na průběh rané ontogeneze u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*). České Budějovice, 2012. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.
- Sahoo, S.K., Giri, S.S., Chandra, S., Sahu, A.K.,** 2007. Spawning performance and egg quality of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction. *Aquaculture* 266, 289 – 292 s.
- Švinger, V.W., Hasen, T., Shadrin, Y., Polícar, T., Kouřil, J.,** 2012. Induction and advancement of ovulation in wild Arctic grayling (*Thymallus arcticus arcticus*) using $D-Tle^6$, Pro^9 , $NEt-mGnRHa$ Lecirelin. *Czech Journal of Animal Science* 58, 8 – 14 s.
- Targońska, K., Kucharczyk, D.,** 2011. The Application of hCG, CPH and Ovopel in Successful Artificial Reproduction of Goldfish (*Carassius auratus auratus*) Under Controlled Conditions. *Reproduction in Domestic Animals* 46, 651 – 655 s.
- Trudeau, V.L., Peter, R.E.,** 1995. Functional interactions between neuroendocrine systems regulating GtH-II release. In: Goetz, F.W., Thomas, P. (Eds.), *Reproductive Physiology of Fish, 1995. Fish Symposium 95*, Austin, Texas, 44 – 48 s.
- Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Can, L.,** 2009b. Effects on growth and survival of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) larvae when co-fed on live and microparticle diets. *Aquaculture Research*, 40, 385 – 394 s.
- Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S.G., Shin, P.K. S., Song, L.,** 2009a. Effects of GnRHa ($D-Ala^6$, Pro^9-NEt) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* 291, 136 – 139 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., Kulikovski, Z.,** 2002. Spawning induction in Cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. Bulletin VÚRH Vodňany, 38, 181 – 193 s.
- Zohar, Y., Goren, A., Tosky, M., Pagelson, G., Leibovitz, D., Koch, Y.,** 1989. The bioactivity of gonadotropin-releasing hormones and its regulation in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: in vivo and in vitro studies. Fish Physiology and Biochemistry 7, 59 – 67 s.
- Zohar, Y., Mylonas, C. C.,** 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture 197, 99 – 136 s.

9. PŘÍLOHY



Příloha 1: Odlov generačních ryb piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) pomocí elektrického agregátu, dne 18.4.2014 na pokusnictví FROV JU ve Vodňanech.



Příloha 2: Rozdělení samic piskoře pruhovaného do jednotlivých experimentálních skupin (I. až X.).



Příloha 3: Odchovná akvária umístěná ve žlabech.



Příloha 4: Biologické filtry vyplněné fluidním médiem spolu s řídicími jednotkami hlídajícími stálou teplotu vody (18 °C).



Příloha 5: Pohled do odchovného akvária na larvy piskoře pruhovaného o stáří tři týdnů.



Příloha 6: Gravimetrická analýza odebraných vzorků larev piskoře pruhovaného.



Příloha 7: Vzorke larev piskoře pruhoanáho odebrané 26.5.2014, připravené pro morfometrické analýzy.



Příloha 8: Vysušené vzorky larev piskoře pruhoanáho (stáří jedinců 38 dní) připravené k rozmělnění a podrobení CHNS-O analýze.



Příloha 9: Larvy piskoře pruhovaného - horní fotografie zobrazuje larvu se žlutkovým váčkem o stáří 7 dní a o celkové délce těla 5,21 mm, na spodní fotografii je zobrazen juvenil o stáří 38 dní a celkové délce těla 27,18 mm.

Příloha 10: Individuální hmotnost generačních samic piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) uvedená v gramech v rámci jednotlivých experimentálních skupin.

Skupina	Hmotnost samic (g)					Průměr	S.D.
I.	38	37	43	40	52	42,00	5,40
II.	52	37	47	40	48	44,80	5,49
III.	36	42	52	37	45	42,40	5,82
IV.	59	51	37	43	43	46,60	7,63
V.	42	39	50	48	33	42,40	6,15
VI.	42	49	51	36	47	45,00	5,40
VII.	46	47	39	53	41	45,20	4,92
VIII.	48	54	38	41	31	42,40	7,96
IX.	53	52	41	43	37	45,20	6,27
X.	40	42	51	43	40	43,20	4,07

Příloha 11: Průměrná míra líhivosti, přežívání larev a celkového přežívání larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) od vysazení jiker po ukončení pokusu (%) pro jednotlivé experimentální skupiny.

Skupina	Líhivost (%)		Přežívání larev (%)		Celkové přežívání larev (%)	
	průměr	S.D.	průměr	S.D.	průměr	S.D.
I.	93,66	4,45	80,54	10,05	73,18	12,85
II.	65,20	22,44	68,55	8,67	42,39	15,80
III.	93,32	3,81	77,78	11,38	69,89	12,11
IV.	87,29	7,23	65,18	12,35	49,68	12,07
V.	87,80	11,69	62,95	16,42	54,58	17,42
VI.	77,06	18,10	52,23	17,21	37,05	12,52
VII.	85,56	7,94	75,10	11,02	60,56	11,71
VIII.	71,73	9,10	61,81	21,08	36,76	12,90
IX.	72,40	15,74	66,00	11,76	47,18	14,88

Příloha 12: Objemu žlutkového váčku (YsV, průměr ± S.D.; μ l) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) pro jednotlivé experimentální skupiny.

Skupina	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	1,23	0,25
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	1,35	0,24
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	1,41	0,17
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	1,44	0,21
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	1,43	0,22
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	1,37	0,33
Dagin (lahvička · 40 kg ⁻¹)	1,42	0,29
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	1,48	0,20
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	1,33	0,25

Příloha 13: Růst larev (celková délka těla, TL; mm) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) znázorněný pro jednotlivé experimentální skupiny.

Datum	28.4.2014		5.5.2014		12.5.2014		19.5.2014	
	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	5,31	0,16	6,98	0,35	10,66	0,64	14,91	1,18
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	5,14	0,24	6,82	0,37	10,63	0,67	15,23	2,31
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	5,16	0,21	6,66	0,47	10,53	0,61	15,01	1,36
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	5,32	0,13	6,85	0,24	10,27	0,68	14,81	1,01
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	5,18	0,15	6,89	0,27	10,75	0,37	15,25	0,99
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	5,27	0,23	7,12	0,63	10,47	0,81	15,28	1,39
Dagin (lahvička · 40kg ⁻¹)	5,28	0,23	6,82	0,34	10,43	0,91	15,27	1,09
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	5,41	0,22	6,88	0,45	10,78	0,53	15,68	0,90
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	5,39	0,21	7,13	0,43	10,33	1,85	15,69	0,87

Příloha 13: POKRAČOVÁNÍ TABULKY - Růst larev (celková délka těla, TL; mm) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) znázorněný pro jednotlivé experimentální skupiny.

Datum	26.5.2014		4.6.2014	
Skupiny	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	17,51	1,68	25,86	2,47
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	19,76	2,09	26,56	2,39
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	18,07	1,59	26,45	2,34
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	18,17	1,55	26,92	2,13
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	19,25	1,66	28,23	2,70
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	19,08	2,05	27,04	2,94
Dagin (lahvička · 40kg ⁻¹)	17,65	1,78	28,14	3,39
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	18,25	2,43	28,40	2,53
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	20,26	1,51	28,22	1,63

Příloha 14: Individuální mokrá hmotnost (Wd, průměr ± S. D.; mg) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po nasazení do pokusu (28.4.2014) a po ukončení pokusu (4.6.2014) pro jednotlivé experimentální skupiny.

Datum	28.4.2014		4.6.2014	
skupina	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	3,12	0,18	133,51	19,46
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	3,13	0,49	162,53	55,23
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	2,97	0,63	132,28	18,14
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	2,94	0,42	124,22	19,05
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	3,19	0,34	148,49	20,37
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	3,25	0,52	139,23	16,85
Dagin (lahvička · 40 · kg ⁻¹)	3,24	0,44	125,92	10,64
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	2,74	0,25	147,95	29,88
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	2,88	0,45	160,26	32,44

Příloha 15: Individuální suchá hmotnost (Ww, průměr ± S. D.; mg) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po nasazení do pokusu (28.4.2014) a po ukončení pokusu (4.6.2014) pro jednotlivé experimentální skupiny.

Datum	28.4.2014		4.6.2014	
skupina	Průměr	S.D.	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	3,12	0,18	1,38	0,17
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	3,13	0,49	1,49	0,18
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	2,97	0,63	1,41	0,16
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	2,94	0,42	1,55	0,24
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	3,19	0,34	1,66	0,34
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	3,25	0,52	1,76	0,29
Dagin (lahvička · 40 · kg ⁻¹)	3,24	0,44	1,36	0,14
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	2,74	0,25	1,68	0,12
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	2,88	0,45	1,78	0,49

Příloha 16: Spalné teplo v bezvodém vzorku (Q_s^d , průměr \pm S. D.; $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) na konci pokusu pro jednotlivé experimentální skupiny.

Skupiny	Průměr	S.D.
Hypofýza (5 mg · kg ⁻¹)	21,93	0,03
Pregnyl (1 500 IU · kg ⁻¹)	22,32	0,04
Pregnyl (3 000 IU · kg ⁻¹)	22,21	0,04
Chorulon (1 500 IU · kg ⁻¹)	22,27	0,03
Chorulon (3 000 IU · kg ⁻¹)	22,30	0,03
Ovopel (peleta · kg ⁻¹)	22,56	0,05
Dagin (lahvička · 40kg ⁻¹)	21,69	0,01
Ovaprim (1 ml · kg ⁻¹)	22,49	0,03
Ovaprim (2 ml · kg ⁻¹)	22,34	0,04

Příloha 17: Průměrné zastoupení hlavních makrobiogenních prvků (dusík, uhlík, vodík, síra, kyslík; %) v larvách piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) na konci pokusu pro jednotlivé experimentální skupiny.

Skupiny	Dusík (%)	Uhlík (%)	Vodík (%)	Síra (%)	Kyslík (%)
I.	11,97	45,68	6,84	0,64	20,17
II.	12,39	46,94	6,86	0,00	20,86
III.	12,13	46,64	6,79	0,42	22,34
IV.	12,46	46,42	6,85	0,00	21,21
V.	11,94	46,22	6,74	0,38	22,01
VI.	11,97	46,77	6,90	0,09	21,97
VII.	12,38	45,57	6,70	0,04	21,30
VIII.	12,39	46,94	6,86	0,00	20,86
IX.	12,56	46,60	6,96	0,00	21,08

10. ABSTRAKT

V diplomové práci byl studován vliv vybraných komerčně dostupných hormonálních preparátů na bázi hCG (Pregnyl, Chorulon) a GnRH-a s dopaminním inhibitorem (Ovopel, Dagin, Ovaprim) a jejich dávek, ve srovnání s homogenátem kapří hypofýzy (CPE), při řízené reprodukci piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*, Linnaeus, 1758) v umělých podmínkách na kvalitu získaného plůdku. Cílem DP bylo posoudit vhodnost jednotlivých komerčně produkovaných hormonálních preparátů pro řízenou reprodukci piskoře a možnost nahradit jimi nestandardizované používání homogenátu kapří hypofýzy. Bylo zjištěno, že použití různých hormonálních preparátů a velikosti dávek může do jisté míry ovlivnit míru líhivosti i přežívání larev (plůdku), velikost žloutkového vřetka larev a množství energie deponované do tělních tkání larev. Prokazatelný rozdíl při aplikaci preparátů na odlišné bázi (hCG versus GnRH) však nebyl zaznamenán. Nejvyšší míra líhivosti larev ($93,3 \pm 3,8 \%$) byla zjištěna u skupin ošetřených preparátem Pregnyl $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. Z hlediska celkového přežívání larev (od nasazení jiker do ukončení pokusu) se prokázaly za nejúčinnější preparáty Pregnyl $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($69,9 \pm 12,1 \%$) a Dagin ($60,56 \pm 11,71 \%$). V rámci DP nebyla prokázána žádná závislost mezi použitým hormonálním ošetřením a růstem larev (z hlediska dosažené celkové délky těla či suché hmotnosti). Množství energie deponované do tělních tkání larev (spalné teplo) bylo u všech skupin srovnatelné, kromě preparátu Dagin, kde byla zaznamenána snížená hodnota. Za nejvhodnější, nejefektivnější a pro řízenou reprodukci doporučeníhodný hormonální preparát nahrazující homogenát kapří hypofýzy z hlediska posuzovaných ukazatelů tak lze vnímat přípravek na bázi hCG a tím je Pregnyl v dávce $3\,000\text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Klíčová slova: Cobitidae, Hypofýza, Přežívání larev, Řízená reprodukce, Stimulace ovulace

11. ABSTRACT

In this M. Sc. thesis, the influence of selected commercially available hormonal preparations based on hCG (Pregnyl, Chorulon) and GnRH-a with dopamin inhibitor (Ovopel, Dagin, Ovaprim) and their benefits were studied, compared with homogenate of carp pituitary (CPE), during controlled reproduction of weatherfish (*Misgurnus fossilis*, Linnaeus, 1758) in artificial conditions on the quality of the produced fry. The goal of this thesis was assess the suitability of individual commercially produced hormonal preparations for controlled reproduction of weatherfish and the possibility to replace with them unstandardized use of homogenate of carp pituitary. It was found that use of various hormonal preparations and dosage may to in some extent affect hatchability and survival rate of larvae (fry), the size of the yolk sac of larvae, and the amount of energy deposited in body tissues of larvae. However, demonstrable difference in studied parameters for the application of different preparations on the different hormonal basis (hCG versus GnRH) was not reported. The highest rate of hatching larvae ($93.3 \pm 3.8\%$) was observed in the groups treated with preparation Pregnyl $3000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$. In terms of overall survival of the larvae (from deployment of hatched eggs until the end of the experiment) have proven to be the most effective medication Pregnyl $3000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($69.9 \pm 12.1 \%$) and Dagin ($60.56 \pm 11.71 \%$). Within the thesis has been demonstrated no relationship between hormonal treatment used and the growth of larvae (in terms of achieved total length of body and dry weight). The amount of energy deposited into the body tissues of larvae (gross calorific value) was comparable in all groups, except Dagin preparation, which was recorded impairment losses. For the best, most effective and commendable for control of reproductive hormone preparation carp pituitary homogenate replacing the terms of the assessed indicators can be seen the preparation based on hCG and that is Pregnyl at a dose of $3000 \text{ IU} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Key words: Artificial reproduction, Cobitidae, Pituitary, Stimulation of ovulation, Survival of larvae