

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h.c.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Účinnost vybraných postupů konzervace ryb na zachování
morfometrických ukazatelů

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jitka Rutkayová, Ph.D.

Autor bakalářské práce: Pavlína Vogalová

České Budějovice, 2020

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě 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/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.

Datum:

.....

.....

Podpis studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Jitce Rutkayové, Ph.D. za všestrannou pomoc, množství cenných a inspirativních rad, doporučení, připomínek a zároveň za velkou trpělivost s obdivuhodnou ochotou při konzultacích poskytnutých při zpracování této práce. Dále bych také ráda poděkovala Ing. Alžbětě Matuškové za její pomoc a čas při praktické části. V neposlední řadě bych také ráda poděkovala své rodině, která mě při vytváření této práce podpořila, a bez jejíž pomoci by nebylo možné studium dokončit.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá problematikou fixace a konzervace ryb. Pokusy na různé metody konzervace ryb jsou součástí mnohých vědeckých ichtyologických prací. Ve většině z nich se však využívá jedné z metod a následně, až na výjimky, není dostupnost porovnání s jinými postupy u stejného druhu ryb.

Cílem této práce je seznámit se s metodami konzervace a fixace, které mají vliv na morfometrické parametry ryb.

Teoretickou částí jsou postupy konzervace a fixace. Poté následuje vlastní pokus efektu konzervace v časové posloupnosti po dvou týdnech u vybraných druhů ryb, kde jsou sledovány a měřeny vybrané morfometrické parametry a jejich případné změny po dobu několika měsíců.

Klíčová slova: formalin (formaldehyd), fixace, měření, konzervace, ethanol, morfometrie, zmrazení

Abstract

This bachelor's thesis is focused on the topic of fish fixation and preservation. Experiments regarding various preservation methods are covered in many scientific ichthyological texts. Unfortunately, most of these works are exploring only one preservation method, so mostly there isn't the possibility of comparison with different methods using the same species.

Aim of this work is introduction to preservation and fixation methods, that affect morphometric parameters of fish.

Theoretical part of this thesis are procedures of fixation and preservation. The experiment itself is focusing on effect of preservation over time. Selected morphometric parameters were observed and measured in selected fish species to discover potential changes in these parameters. Measurements were being taken every two weeks for few months.

Key words: formalin (formaldehyde), fixation, measurerent, preservation, ethanol, morphometric, freezing

Obsah

Obsah	6
1 Úvod	9
2 Literární přehled	10
2.1 Morfometrické znaky	10
2.2 Metody měření	11
2.3 Konzervace biologického materiálu	11
2.4 Fixace	13
2.4.1 Chemické metody fixace	14
2.4.2 Chemické látky užívané pro fixaci	14
2.4.3 Směsné fixační tekutiny	19
2.4.4 Fyzikální metody fixace	19
2.4.5 Přírodní látky používané pro fixaci	20
2.4.6 Specifika uložení	21
2.4.7 Faktory ovlivňující chemickou fixaci	21
2.5 Mrazení	22
3 Hypotézy a cíle	24
4 Materiál a metodika	25
4.1 Popis vybraných druhů	25
4.1.1 Ježdík obecný (<i>Gymnocephalus cernuus</i>)	26
4.1.2 Ouklej obecná (<i>Alburnus alburnus</i>)	26
4.1.3 Cejn velký (<i>Abramis brama</i>)	26
4.1.4 Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>)	26
4.2 Původ získaného vzorku/vzorků, místo, datum, způsob odchovu	27
4.3 Vážení a měření vzorků na začátku	27
4.4 Popis vybraných konzervačních prostředků	29
4.4.1 Konzervační roztoky	29

4.4.2 Mrazení	30
4.5 Časy měření	30
4.6 Vybrané morfometrické parametry ryb	32
5 Výsledky	33
6 Závěr a doporučení pro ichtyologickou praxi	47
7 Bibliografické citace.....	49
8 Seznam tabulek.....	53
9 Seznam obrázků	54
10 Seznam grafů.....	54

1 Úvod

Anatomická fixace a konzervace jsou vyžadovány k prevenci autolýzy a rozkladu exemplářů. Zatímco fixace je primární zastavení struktur zodpovědných za autolýzu a rozklad, konzervace zachovává stav fixace. První částí práce je literární přehled popisující morfometrické znaky, druhy chemických a fyzikálních konzervací, fixací, a postupů, metody měření, specifika uložení a faktory ovlivňující chemickou fixaci.

Hypotézy a cíle jsou druhou částí práce, kdy byly stanoveny následující cíle: zhodnocení efektu konzervace, posouzení efektu vlivu na malé a velké ryby, určení vlivu na nejvíce ovlivněné části ryb.

Experimentální část probíhala v laboratoři na Katedře zootechnických věd Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. V kapitole materiál a metodika jsou popsány druhy ryb, na kterých byl pokus prováděn (cejn velký, ježdík obecný, okoun říční a ouklej obecná). Vzorčky ryb pocházely z běžné rybníční obsádky Zlivského rybníka ležícího v Českobudějovické pánvi. Měření různých částí těla ryb pro zjištění vlivu na biologické vzorky probíhala v pravidelných intervalech po dvou týdnech až na výjimku, kdy z důvodu pandemie byla uzavřena laboratoř. Jako konzervační činidla byly použity roztoky základních složek formaldehydu, ethanolu spolu s kohoutkovou vodou, destilovanou vodou a laboratorně připravenou vodou mořskou a dále pak konzervace mrazem.

Poslední části jsou věnovány statistickému popisnému zhodnocení naměřených dat ve zvolených oblastech pro prvotní zjišťování odpovědí na otázky týkající se efektu konzervace, vyhodnocení efektu na malé a velké ryby a vyhodnocení vlivu na části těl.

2 Literární přehled

2.1 Morfometrické znaky

Morfometrie se používá k popisu a porovnání tvarů organismů nebo jednotlivých struktur organismů a k analýze změn tvaru v důsledku růstu, experimentální léčby nebo evoluce (Zelditch *et al.*, 2004). Výstupem morfometrických zkoumání jsou tabulky s čísly a pro získání informací z těchto dat se využívají matematické operace (Zelditch *et al.*, 2004).

Výhodou morfometrických metod je celosvětové standardizované používání bodů a měř (Fetter *et al.*, 1967).

Metodologie morfometrie využívá několik typů měř, které lze dělit z různých hledisek. V zásadě se jedná o míry absolutní (lze je přímo změřit – vzdálenosti bodů, plochy, objemy, úhly, hmotnost atd.) a relativní (vypočítané – některé úhly, některé vzdálenosti, indexy atd.). Všechny tyto míry jsou předem přesně definované a popsané a jejich měření je často založené na landmarcích (Slice, 2005; Stloukal *et al.*, 1999).

K měření se používají dnes již tradiční měřicí nástroje, i když se čas od času v odborné literatuře objeví popis nového měřidla a jeho použití (Stloukal *et al.*, 1999).

I přes všechny dokonalé popisy měření je téměř nemožné dosáhnout stoprocentní opakovatelnosti. To může být způsobeno různými příčinami, např. chybami v technice měření nebo chybami způsobenými nepřesnými nástroji. Je proto vhodné provádět v průběhu testů kontroly měření (Fetter *et al.*, 1967; Rohlf *et al.*, 1990; Stloukal *et al.*, 1999).

(Baruš *et Oliva*, 1995) poznamenávají, že u tzv. plastických neboli (morfometrických) znaků se míry snímají na rybě, která leží na levém boku. Často nevíme, které míry jsou důležité a které nikoliv. Proto je třeba se nejprve seznámit s literaturou a srovnat pečlivě údaje, které byly již o plastických znacích konkrétního druhu publikovány. Nelze přitom ovšem nikdy zapomenout na základní rozměry, kterými jsou délka těla, hlavy, průměr oka, výška těla, predorzální a prenatalní rozmezí, délka a výška kořene ocasu a délka ploutví.

Jednotlivé míry jsou vyjadřovány v desetinných zlomcích (u starších autorů) nebo v procentech (nověji) délky těla, hlavy atp. Důležitou pomůckou k zjištění míry proměnlivosti jednotlivých znaků jsou metody variační statistiky. Aby bylo možno příslušná měření srovnávat, je nezbytně nutné postupovat vždy podle stejného schématu. Nebývá tomu tak vždy, neboť mnozí ichtyologové si schémata měření sami upravují, a ne vždy uvádějí přesnou metodiku měření a některé jednotlivosti pokládají za zvlášť důležité. Během času dochází i k případům, kdy různé práce o biometrice ryb nelze dobře vzájemně srovnávat, i když se týká

stejného druhu. V české literatuře jsou o této problematice uvedeny souhrnné údaje u Olivy (1952e), ve slovenské literatuře nejnověji viz Holčík *et* Hensel (1972).

2.2 Metody měření

K měření používáme, stejně jako u obojživelníků, plazů a mihulovců, posuvného měřítka nebo odpichovátko, kterým si přenášíme naměřené rozměry na milimetrovou stupnici. Je nutno měřit průmětově, nikoli po ohybu těla. Vzdálenost měříme a zapisujeme v mm, u ryb menších než 100 mm měříme malé rozměry s přesností větší (na $\pm 0,25\text{mm}$) (Baruš *et* Oliva 1995).

Posuvné měřítko, slangově též zvané „šuplera“, je kovové, jednoduché měřidlo délek s přímým odečítáním hodnot (Mlčoch *et* Slimák, 1987).

2.3 Konzervace biologického materiálu

Známé metody konzervace biologického materiálu jsou na příklad: 1. uchování v kapalinovém válci, 2. zalévání objektů, 3. prosycení parafínem, 4. preparace (viz dále níže).

1. Uchování v kapalinovém válci – veškerá starší literatura (Altmann, 1966; Altmann *et* Lišková, 1979; Buchar, 1983; Táborský, 1961) uvádí jako jednu z hlavních konzervačních kapalin formalin, respektive roztok 4% formaldehydu¹. Zabroušené zátky nebo destičky na válce s materiálem lihovým nebo formolovým utěsníme tmelem (Jírovec, 1958).

Tekutinová preparace se nejvíce používala a používá pro trvalé ukládání muzejních preparátů většinou v 4% formolu či 70% etanolu nebo pomocí roztoku, který mění krevní a svalové barvivo na karbonylhemoglobin a tím zajišťuje zachování přirozené barvy (CSPPPOS, 2012).

Konzervace ryb je celkem jednoduchá. Ryby jsou již buď usmrcené, nebo jsou usmrceny přímo v konzervační tekutině, nejlépe v 80% alkoholu (Jírovec, 1958). Po usmrcení ryby nastříháme na břišní straně, nebo jim vstříkneme větší injekční stříkačkou do dutiny tělní 10% formol. Ukládáme je buď ve formolu (asi 4%) nebo je převedeme přes vodu do 80% alkoholu. Můžeme použít i přímo alkohol pro konzervaci. Alkohol má před formolem tu přednost, že zachová daleko lépe barvy a práce s ním je mnohem příjemnější. Alkohol ředíme

¹ Táborský (1961) i Jírovec (1958) uvádí starší názvy chemikálií. Pro formaldehyd používají dnes již nepoužívaný termín formol. Etanol zde uvádí pod obecným názvem alkohol. V citacích ponechány názvy dle autorů.

pro první konzervaci asi na 50%, rybu necháme v roztoku jeden nebo dva dny a převedeme ji do silnějšího alkoholu (70-80%). Při alkoholové konzervaci je naprosto nutný, neboť při vhození do silnějšího alkoholu se ryba příliš rychle odvodní a scvrkne. Velmi dobrá je kombinace formolu a alkoholu (Jírovec, 1958). Stříbřitý lesk ryb se dobře uchová uložením do nasyceného roztoku chloridu sodného (33% NaCl), do kterého přidáme nějaký druh antiseptika (fenol, ajatin apod.) (Jírovec, 1958).

(Mourek *et* Lišková 2010) píše o formalinu jako o donedávna nejpoužívanějším konzervačním roztoku, tedy 4% vodný roztok formaldehydu, který ředíme nejlépe převařenou vodou, aby nedocházelo k uchycování bublinek na objektu. Doporučuje se použít vodovodní vodu kvůli jejímu obsahu solí nebo přidat sodu pro neutralizaci kyseliny mravenčí. Jeho výhodou je, že fixuje relativně rychle i hodně vodnaté živočichy. Je vhodný v případech, kdy je třeba u objektu dosáhnout rychle stálého tvaru, jelikož v něm přírodniny rychle tvrdnou. Táborský (1966) však píše o 8 % formaldehydu, jako konzervační tekutině pro fixaci.

Preparáty naložené ve formaldehydu je potřeba chránit před mrazem. Protože většinu objemu fixáže tvoří voda, vznikající led může nádobu roztrhnout. Po určité době vzniká ve válcích s formalinem samovolnou oxidací kyselina mravenčí, která způsobuje rozpouštění vápenatých částí živočichů (Táborský, 1961).

U starších kapalinových preparátů se můžeme setkat také s bílými krystaly na jeho dně. Jedná se o vysrážený polymer formaldehydu, paraformaldehyd (Altmann, 1966).

2. Zalévání objektů – mezi nejčastěji používaná média patří parafin nebo jeho speciální úprava pro histologii zvaná paraplast, epoxidové pryskyřice, celoidin nebo želatina. Parafin se používá většinou při práci ve světelné mikroskopii, kdežto epoxidové pryskyřice jsou častější pro elektronovou mikroskopii (Junqueira *et al.*, 1999).

3. Prosycení parafinem – prosycení tkání parafinem se používá parafin speciálně k tomu určený. Běžný parafin je méně kvalitní a není k prosycování vhodný. Kvality potřebné pro histologii se u běžného parafinu dosáhne teprve opakovaným tavením při 70 – 80 °C. Jírovec (1958) uvádí, že je vhodné takovýto parafin tavit opakovaně i několik týdnů, dokud nezíská světlehnědou barvu. Odvodnění a následné prosycení parafinem způsobuje smršťování tkáně o 8-20 % (Jírovec, 1958). Habrová (1986) k takto zbarvenému parafinu výsledně přidává ještě 5 % včelího vosku.

V histologii se běžně používají 3 základní typy parafinu. Jejich pečlivý výběr má nezanedbatelný význam. Tyto parafiny se liší v teplotě tání a jednak v objektech, jež je vhodné do nich zalévat. Měkký parafin taje při teplotě 40 – 45 °C a je vhodný k zalévání měkkých tkání. Střední parafin má bod tání v rozpětí teplot 50 – 58 °C a v praxi je nejvíce

využívány, protože do něj lze zalít prakticky všechny běžné tkáně. Posledním typem parafinu je parafin tvrdý, který taje při teplotách vyšších než 58°C. Je vhodný zejména pro tvrdé tkáně a práci v místnostech s vyššími teplotami (Jírovec, 1958).

4. Preparace – pro preparaci ryb existuje celá řada možných metod a postupů. Nejprimitivnějším postupem je vysušení bez použití jakýchkoliv chemikálií. Tímto postupem získaný preparát ale neodpovídá původnímu tvaru a zbarvení, a navíc má krátkodobou životnost. Pokud rybu před vlastním vyschnutím necháme určitý čas v roztoku alkoholu nebo formaldehydu, je prodloužena doba trvanlivosti, avšak vizuální výsledek je podobný. Pro zachování původního tvaru je nutné odstranit všechny měkké tkáně a nahradit je materiálem, který časem nemění objem. Pro tento účel se nejčastěji používají piliny v kombinaci s nejrůznějšími přísadami a jejich kombinacemi (sádra, polystyren, lepidla apod). K odstranění vody z tkání je nejčastěji využíváno klasické sušení pomocí vyšší teploty a proudu vzduchu. Velice šetrnou metodou sušení preparátů je způsob označovaný jako vakuové vymrazování nebo lyofilizace (Nebeský *et* Bláha, 2012).

Za nejucelenější dosud zveřejněný postup preparace celých ryb a rybích hlav v České republice lze považovat články v časopise *Rybářství* z počátku 90. let 20. století (Pelikán, 1991, 1992).

2.4 Fixace

Úkolem fixace je zachovat (konzervovat) buňky a tkáňové komponenty v takovém stavu, který dovoluje jejich pozdější studium a zamezení růstu plísní a bakterií. Během fixace dochází k denaturaci bílkovin. Po odebrání tkáně velmi rychle dochází k autolytickým procesům. K těmto pochodům dochází díky tomu, že jsou přerušeny přívody kyslíku a přestává být řízena regulace mezi jednotlivými buňkami v tkáni. Enzymy vznikající v organele nazývané lysozom přispívají k autolýze. Pokud není fixace provedena okamžitě po odebrání tkáně, může docházet k napadení tkáně mikroorganismy, což je označováno jako heterolýza. Důležité u fixace je, aby nebyly změněny struktury buněk a jiných komponent, čemuž však nejde stoprocentně zabránit. Vždy dochází alespoň k částečným změnám, a proto je důležité vybrat takovou metodu fixace, která strukturní změny omezí (Rollst, 2012; Čech *et al.*, 2006).

Jírovec (1958) píše o úkolu fixačních tekutin jako o rychlém usmrcení živé buňky, zatímco je zachována její struktura, pokud možno nepozměněná. Ideálnímu požadavku, aby se buňka

fixací vůbec nezměnila, neodpovídá ovšem žádná z dosud známých fixází, proto musíme výsledky bádání na fixovaných buňkách hodnotit opatrně a neustále si uvědomovat, že fixací vznikají v každém případě artefakty, někdy větší, jindy menší, které se obrazu živé buňky více nebo méně blíží (Jírovec, 1958).

Fixace se zakládá na neustálém srážení buněčných koloidů, hlavně ovšem bílkovin (Jírovec, 1958).

Dle Táborského (1961) u fixace větších živočichů hrozí, že se objeví hnilobný proces v zažívacím traktu a vnitřnostech, proto se doporučuje injektovat do objektu 96% alkohol ještě před tím, než ponoříme zoologický objekt do konzervačního roztoku.

Lang *et al.* (1963) doporučují jako vhodnou injekční tekutinu složenou ze 100 dílů 70% alkoholu a 5 dílů 40% formaldehydu na 9 až 12 dílů vody.

2.4.1 Chemické metody fixace

Při těchto metodách se užívají činidla, která reagují s biologickými složkami a imobilizují a stabilizují preparát bez velkých strukturních změn. Chemická metoda se provádí v zásadě dvěma různými způsoby – imerzním a perfúzním způsobem (Nebesářová, 2001; Čech *et al.*, 2006).

Imerzní – ponoření tkáně, která byla odebrána do fixačního roztoku, kdy se udává, že roztoku musí být řádově 10 – 100krát víc, než je objem fixované tkáně. Toto ponoření trvá několik hodin, ale i dnů či delší časový úsek (Brachtl, 2015). Dále se v literatuře udává, že by měl být roztok minimálně jedenkrát vyměněn.

Perfúzní – při této metodě se samotný fixační prostředek vpraví do krevního oběhu, nejčastěji transkardiálně. Před tím se ještě proplachuje nejčastěji fyziologickým roztokem. Fixace je v tomto případě téměř dokonalá, neboť se fixátor velmi rychle dostane ke všem buňkám orgánu. Metody se využívá pouze v experimentech na zvířatech a je to ve spotřebě fixačního roztoku nákladnější metoda (Brachtl, 2015).

2.4.2 Chemické látky užívané pro fixaci

Existuje nepřeberné množství fixačních činidel. Vůbec nejznámější a nejoblíbenější je formaldehyd, užívaný ve velké míře v histopatologii, a glutaraldehyd, který se užívá pro ultrastrukturní studie.

Glutaraldehyd (GA, Obrázek 1) je fixační prostředek, který dokáže zachovat prostorové rozmístění komponentů buňky a částečně dokáže zanechat některé enzymy aktivní. Díky dvěma funkčním skupinám se může vázat na aminoskupiny proteinů (Obrázek 1). Dokáže rychle reagovat s lysinem, ale i s dalšími proteinogenními aminokyselinami. Nereaguje s lipidy. GA má špatnou penetrační schopnost, a proto se dá využít jen na tenké řezy (uvádí se 2 mm). Další nevýhodou, která je ale společná pro všechny aldehydy, je sklon buněk tvořit membránové váčky po tom, co zemřou. Používají se výhradně pufrované roztoky a fixace většinou nepřesáhne pět hodin (Pawley, 2006).



Obrázek 1 Strukturní vzorec glutaraldehydu

Formaldehyd (FA, Obrázek 2) je fixátorem, který je hojně užívaný v histologických laboratořích (Altmann, 1966). Při použití formaldehydu v histologii musíme brát na zřetel specifickou nomenklaturu. Za prvé, nasycený roztok formaldehydu nazýváme formolem či formalínem (100% formol či 100% formalín), přičemž se jedná o dva různé názvy pro stejný roztok. Za druhé, nasycený roztok formaldehydu ve vodě je nasycený jako 40%, vyjadřujeme-li procentuální podíl jako hmotnost/objem, a jako 37%, vyjadřujeme-li procentuální podíl jako hmotnost/hmotnost. Množství formaldehydu je v obou případech stejné, pokaždé se tedy jedná o stejný nasycený roztok, pouze se liší vyjádření procentuálního podílu formaldehydu v roztoku. Hovoříme-li tedy o 10% formolu, máme na mysli 4% roztok formaldehydu (jelikož 100% formol je 40% formaldehyd, kde 40% formaldehyd je nasyceným roztokem (vyjadřujeme-li procentuální podíl jako hmotnost/objem)). Právě 4% roztok formaldehydu se používá k fixaci tkání (Fox et al., 1985).

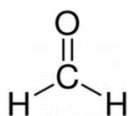
Při vyšších koncentracích formaldehyd samovolně polymerizuje, čemuž se zabraňuje přidáváním alkoholu (nejčastěji 10% methanolu), který slouží jako inhibitor této reakce (Fox et al., 1985).

Při pokojové teplotě je formaldehyd plynem, který se velmi dobře rozpouští ve vodném prostředí. V tkáních reaguje převážně s bílkovinami, a to díky své aldehydické skupině, která se naváže na aminoskupiny proteinů (tvorba příčných vazeb mezi polypeptidickými řetězci bílkovin) (Altmann, 1966). Za pomoci formaldehydu je možné fixovat i větší preparáty, a to díky malým molekulovým rozměrům. Je tedy zřejmé, že má vyšší penetrační schopnost na rozdíl od dříve zmíněného glutaraldehydu, který má větší molekulové rozměry. Reakce formaldehydu s bílkovinami je na rozdíl od rychlosti pronikání o poznání menší. Míra

pronikání se vyšší teplotou zvyšuje stejně jako intenzita tvorby příčných vazeb. Stejných účinků lze dosáhnout i zvýšením tlaku. Urychlení reakcí a zlepšení vazeb lze dosáhnout i za pomoci mikrovlnného záření. Zde je ale důležité brát na zřetel, že dochází k tvorbě výparů, které jsou zdraví škodlivé a také dochází ke koagulaci. Formaldehyd má tu výhodu, že dokáže zesíťovat i nukleové kyseliny (Altmann, 1966).

Nejenomže FA reaguje s bílkovinami, ale také i s lipidy. Ionty Ca^{2+} zvyšují stabilizační účinek formaldehydu na lipidy, tekutina využívaná k této stabilizaci se označuje jako Bakerova (roztok formaldehydu a chloridu vápenatého). Občas se místo samotného FA využívá spojení s GA, a to kvůli tomu, že FA má nižší výslednou kvalitu fixace. GA se zaručuje lepší fixací a FA zaručuje větší rychlost fixace (Altmann, 1966; Čech *et al.*, 2006).

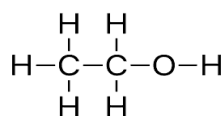
Páry formaldehydu jsou hořlavé a výbušné. Je dobře rozpustný ve vodě, alkoholech a dalších polárních rozpouštědlech. Jelikož čistý plyn snadno polymerizuje, skladuje se obvykle ve formě vodného roztoku (IRZ, 2011).



Obrázek 2 Strukturální vzorec formaldehydu

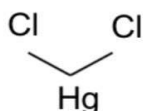
Alkohol ethylnatý (ethanol), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Obrázek 3). Používá se aspoň 70%, raději silnějšího. Jemnější struktury se v něm scvrkávají, barvitelnost však zůstává dobře zachována. Čistý je velmi drahý, proto kde to jde, používáme alkoholu denaturovaného 2% benzolem, který snese ředění vodou i na 60-70% (Jírovec, 1958).

Podle Táborského (1961) by se měl použít nejdříve 50% ethanol, který se asi po dvou dnech vymění za 60 % a ten dále za 75% alkohol. Postupné odvodňování touto alkoholovou řadou by se mělo dodržovat zejména u vodnatých živočichů. Důvodem je, aby se zoologické objekty příliš rychlým odvodněním nesmrštily a neztratily tak svůj přirozený tvar. Altmann (1966) uvádí, že u vodnatých objektů, jako jsou například ryby, je možno použít jako finální konzervační roztok až 80% roztok ethanolu, jelikož jeho koncentrace následně sama klesne na požadovaných 65 – 75%.



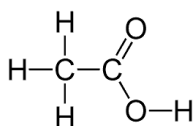
Obrázek 3 Strukturní vzorec ethanolu

Sublimát, chlorid rtuťnatý, HgCl_2 (Obrázek 4), je nejužívanější ze solí těžkých kovů. Rozpouští se ve studené vodě v poměru 7:100, v horké vodě a ve studeném alkoholu však mnohem více. Nemají se do něho ponořovat kovové nástroje, protože se ihned povlékají šedavým povlakem (Jírovec, 1958). Jírovec (1958) zdůrazňuje, že prudce jedovatý, a proto je třeba dát pozor při práci s ním! Dále poznamenává, že jeho sraženiny ve tkáních se odstraní vypráním tkání nebo řezů v 80% alkoholu, který byl zbarven přísadou Lugolova roztoku do slabě hnědé barvy.



Obrázek 4 Strukturní vzorec chloridu rtuťnatý

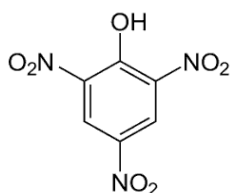
Dalšími hojně užívanými fixačními činidly jsou organické kyseliny. Můžeme sem zařadit kyselinu octovou (Obrázek 5), která se sama o sobě nevyužívá, neboť fixační účinek na tkáň je velmi špatný. Proto se využívá pouze ve směsích či tekutinách, kde napomáhá urychlovat fixaci jiných fixačních látek. Stejně je tomu i u dalšího zástupce, jímž je kyselina trichloroctová, která rychle proniká do tkání. (Čech *et al.*, 2006).



Obrázek 5 Strukturní vzorec kyseliny octové

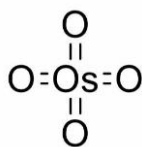
Nejnámějším zástupcem organických kyselin určených k fixaci je kyselina pikrová (Obrázek 6). Je to látka málo rozpustná ve vodě se silně hořkou chutí. V žádném případě se nesmí silně zahřívat, jelikož by hrozil výbuch. Velmi dobře precipituje bílkoviny, neproniká do tkáně příliš rychle a barví tkáň nažluto. Reaguje převážně s bazickými aminokyselinami a tvoří s nimi málo rozpustné soli nazývané pikráty. Používá se buď v roztocích s jinými

sloučeninami, nebo jako samotné fixační činidlo (sporadicky). V kombinaci s formaldehydem a kyselinou octovou vzniká Bouinova tekutina (má žlutou barvu, rychle proniká, nejčastěji 3 díly nasycené kyseliny pikrové, 1 díl formaldehydu a pár mililitrů ledové kyseliny octové). Bouinova tekutina se doporučuje pro fixaci biopsií ze zažívacího traktu, fixaci zvířecích embryí a tkáně ze žláz s vnitřní sekrecí. Vzhledem ke kyselé povaze látky se ve tkáni pomalu rozpouští vápenaté a železité depozity. Délka fixace je 4 – 18 hodin. (Rolls, 2012)



Obrázek 6 Strukturní vzorec kyseliny pikrové

Oxid osmičelý (Obrázek 7) je vysoce toxická, těkavá, krystalická pevná látka, která se dodává v uzavřených ampulích. Je rozpustný v polárních i nepolárních rozpouštědlech. Reaguje s postranními řetězci bílkovin a tvoří s nimi vazby. Je jedním z mála fixátorů, který dokáže stabilizovat lipidy (s nenasycenými mastnými kyselinami utváří cyklické estery osmia). Při reakcích s organickými sloučeninami se tvoří osmiová čern a ta způsobí zčernání preparátu (ukládá se hlavně v membránách). Nezpůsobuje téměř žádné morfologické artefakty ve tkáních. Dále velice dobře zachovává strukturu biologických membrán, čehož se využívá ve světelné mikroskopii. Molekula oxidu osmičelého je poměrně velká a kvůli tomu proniká do tkáně velice pomalu, udává se $K = 0,2$ mm/h (difúzní koeficient). Kvalita fixace je ovlivňována teplotou (rychlejší reakce při vyšší teplotě), koncentrací (větší koncentrace napomáhá rychlejší fixaci) a konečně při nízkém pH se snižuje reaktivita (Nebesářová, 2001; Rolls, 2012; Čech *et al.*, 2006).



Obrázek 7 Oxid osmičelý

Menší skupinou, která se využívá jen v kombinacích s jinými fixátory ve specifických tekutinách, je ethanol (Carnoyova tekutina), metanol a aceton. Samy o sobě způsobují smrštění a ztvrdnutí fixovaného vzorku (Čech *et al.*, 2006).

Jírovec (1958) upozorňuje na to, aby fixovaný materiál byl pokud možno čerstvý, neboť několik hodin po smrti zvířete nastávají v buňkách některé posmrtné změny. Menší živočichy hodíme do fixační tekutiny celé, větší narkotizujeme. Do fixáže vkládáme jen malé kousky tkání (menší než 1 cm), neboť fixační tekutiny srážejí bílkoviny při vnikání do tkání a tím si vlastně do hloubky uzavírají cestu. Proto kousky tkání větší než 1 cm jsou zpravidla uprostřed špatně fixovány, neboť fixáž se tam dostala příliš pozdě a nemohla již zabránit autolytickým, po případě i hnilobným dějům. Necháme-li tyto větší kousky ve fixáži dlouho, jsou zase vnější vrstvy přefixovány. V některých případech se doporučuje fixovat při teplotě 4 – 6 °C (v ledničce), která sice trochu zpomalí pronikání fixáže do tkání, daleko více však zvolní autolytické děje v odumírajících buňkách. Používejme vždy většího množství fixačních tekutin, necht' je jejich objem 20 – 50x větší než objem fixovaného předmětu. Objekty musí být do fixáže zcela ponořeny (Jírovec, 1958).

2.4.3 Směsné fixační tekutiny

Fixačních tekutin existuje několik různých typů, ze kterých je možno vybírat podle toho jaké požadavky klademe na konečný preparát. Mezi nejčastěji používané patří Bouinova fixační tekutina, Zenkerova fixační tekutina nebo Carnoyova fixační tekutina. Jako samostatnou fixační tekutinu je možné použít i formaldehyd, který je také používán jako součást směsí jiných fixačních tekutin.

Nejčastěji používanou fixační tekutinou je Bouinova fixáž, která se připraví smícháním 150ml kyseliny pikrové, 50ml 40% formaldehydu a 10 ml ledové kyseliny octové. Doba fixace závisí na velikosti objektu a pohybuje se v rozmezí od 2 do 48 hodin (Lelláková *et al.*, 1985)

2.4.4 Fyzikální metody fixace

Fyzikální metody v sobě zahrnují fixaci pomocí vysokých teplot, nízkých teplot a metody vysychání.

Prvně zmíněná metoda se využívá v mikrobiologii, kdy jsou nátěry bakterií na sklíčku vystaveny plamenu kahanu. Další, dnes již běžně používanou metodou, je metoda

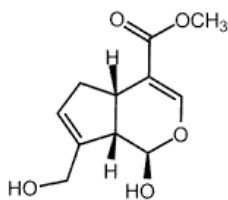
mikrovlnná, která se také řadí do fixace vysokou teplotou. Jsou dvě možnosti využití těchto vln. První z nich je, že se fixační činidlo nahradí mikrovlnami. Druhá možnost využití spočívá v umístění tkáně do fixačního roztoku a vložení do mikrovlnné trouby. Mikrovlny vytvoří kanálky v tkáních a fixátor může lépe prostupovat do tkáně. Zde tedy mikrovlny ovlivňují rychlost prostupu fixačního činidla, ale jako samotné zde nejsou fixačním činidlem. U těchto metod je velice důležité dodržování teplotního schématu. Nadměrné teplo může způsobit poškození buněk a může vést ke značnému smrštění a ztvrdnutí vzorku (Nebesářová 2001; Rolls, 2012).

U druhé fyzikální metody fixace se využívá nízkých teplot. Jde o metody kryofixace, kdy je vzorek rychle zmrazen (např. tekutým dusíkem). Aby se zkrátil čas, kdy se tvoří krystaly, může vzorek ošetřit kryoprotektantem. U tohoto druhu fixace je velice důležitá rychlost zmrazení preparátu. Pokud vzorek není dostatečně rychle zmrazen, vznikají krystaly, které poškodí vnitřní struktury vzorku. Cílem metody je dosažení vitrifikovaného (zeskelnatění) stavu preparátu. Výhodou metody je, že nedochází k denaturaci antigenů a enzymů (Nebesářová, 2001).

2.4.5 Přírodní látky používané pro fixaci

Různá fixační činidla jako formaldehyd, glutaraldehyd, oxid osmičelý a spousta dalších jsou velice toxická, mohou poleptat kůži a některá jsou dokonce mutagenní. Je proto důležité najít taková fixační činidla, která by se mohla používat v biomedicínských aplikacích. Předpokladem je nízká cytotoxicita, vysoká stabilita a hlavně biokompatibilita (Brachtl, 2015).

Genipin (Obrázek 8) je přirozeně se vyskytující činidlo, které se extrahuje z Gardénie jasmínové. Fixace i chemická modifikace biologické tkáně zvyšuje odolnost vůči enzymatické degradaci a snižuje antigenicitu. Genipin spontánně reaguje s aminokyselinami za vzniku modrého pigmentu-ten se využívá i jako potravinářské barvivo (Sung, 1998).



Obrázek 8 Strukturní vzorec genipinu

2.4.6 Specifika uložení

Pro uložení zoologického materiálu je zapotřebí volit prostředí s hodnotami relativní vlhkosti (v rozmezí 45 – 50 %) a teplotou do maximálně 18 °C (nejlépe pod 10 °C pro ochranu před hmyzími škůdci). Zoologický materiál by měl být uložen v bezprašném prostředí, za nulové světelné expozice a nejlépe v prostorách bez oken (Štefcová, 2000).

Ovšem Frišhons *et al.* (2017) píší o vhodném uložení etanolových a formaldehydových preparátů ve sbírkách v místnosti nebo ve skříni bez přístupu světla a ultrafialového záření při relativní vlhkosti vzduchu 50 – 65 % a teplotě 18 – 21 °C, se zamezením vibrací a zbytečného pohybu.

2.4.7 Faktory ovlivňující chemickou fixaci

Existuje celá řada faktorů, které ovlivňují rychlost a účinnost fixace tkáně. K těm nejdůležitějším patří (Rolls, 2012):

1. Objemový poměr – někdy udávaný jako objem fixáže, je objem, který je potřebný ke kvalitně provedené fixaci. Jako minimální poměr se udává 10:1, tedy je potřeba minimálně desetkrát víc fixačního roztoku, než je objem tkáně. Optimální poměrem je 50:1. Cílem je zabránit vyčerpání fixační látky. Větší objem také lépe reflektuje případné změny.

2. Teplota – vyšší teplota zajistí rychlejší difúzi fixátoru do tkáně a také zvýší rychlost chemické reakce mezi fixátorem a okolními látkami. Ovšem vyšší teplota může naopak negativně ovlivnit rychlost autolýzy. Někdy se pro změnu používá fixace při nízké teplotě, ta má zase za následek některé cytologické změny jako je rozpad mikrotubulů.

3. pH – ovlivňuje rychlost autolýzy. Rychlost reakce aldehydů (formaldehyd) s bílkovinami je hodně ovlivněna právě pH, a proto se volí optimum kolem 6,8 – 7,2. Je dobré si opět uvědomit, že záleží na buněčných komponentech, které budou fixovány a podle toho volit pH, protože příliš kyselé prostředí může ovlivnit některé komponenty negativně (vakuoly).

4. Čas – optimální doba fixace se liší podle metody fixace a samotného fixátoru a je značně rozdílná. Míra penetrace je také závislá na čase a pro každý fixátor se udává zvlášť. Pro 10% formaldehyd je difúzní koeficient roven 0,78 mm/h to znamená, že do středu tkáně o tloušťce 10 mm se formaldehyd dostane za více jak 25 hodin.

Dalšími faktory mohou být osmolalita, koncentrace fixačního činidla, případně ještě další přídavné látky, které se použijí během fixace. Z tohoto velmi stručného přehledu je zřejmé, že neexistuje univerzální postup fixace, který by byl vhodný pro různé tkáně a buňky. (Rolls, 2012)

2.5 Mrazení

Fixace zmrazením je pravděpodobně nejšetrnější způsob fyzikální fixace. K hlubokému zmrazení dochází za použití tekutého dusíku o teplotě $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Při kontaktu tekutého dusíku s tkání dochází k jejímu rychlému zmrazení, čímž se zabrání krystalizaci vody uvnitř buněk, a tak jejich roztržení. Strukturní změny, ke kterým vlivem této fixace dochází, nejsou příliš velké, proto buňky jsou i po rozmrazení nadále schopny života. Dále se používá fixace zmrazením, ale pouze několik desítek stupňů Celsia pod nulou. Tento typ fixace se používá v histochemii nebo v cytochemii enzymů, protože malé zmrazení enzymů nijak nenarušuje jejich aktivitu. Pro fixaci buněk není tento typ zmrazení ideální, protože dochází ke strukturálním změnám v buňce (Habrová, 1986).

Ryby lze mrazit celé i s vnitřními orgány, vyvrhnuté nebo ve formě polotovaru zcela zbavené vnitřností i svaloviny. V případě zmrazeného materiálu hrozí při dlouhodobém a nevhodném uskladnění jeho vymrznutí (sublimace vody z těla ryby), dále pak především poškození ploutví olámaním nebo zahájení rozkladu tuků a bílkovin. Je proto nutné věnovat procesu zmrazování maximální pozornost a dodržovat určité zásady (Nebeský *et* Bláha, 2012).

Před zmrazením je nutné rybu neprodyšně zabalit do plastického sáčku tak, aby těsně poléhal kůži. V této fázi je zapotřebí rovněž přimáčknout ploutve pevně k tělu. Problém tedy většinou nastane s ocasní ploutví, která bývá po zmrazení ryby často poškozena. V žádném případě se nedoporučuje mrazit hromadně více kusů ryb. Při pozdějším pokusu oddělit jednotlivé ryby od sebe většinou dochází k jejich porušení. Stejný postup lze použít u ryb částečně vyvrhnutých, tedy s odstraněnými vnitřnostmi (především s trávicím traktem) (Nebeský *et* Bláha, 2012).

V případě mrazení celých ryb, a to především dravců, je při dlouhodobějším uskladnění pravděpodobné natrávení vnitřností činností proteolytických enzymů obsažených v žaludku a střevech. Takto poškozené tkáně později při vlastní preparaci znesnadňují odstranění svaloviny a v nejhorších případech mohou vést až k porušení kůže ryby. Druhy, jako candát

nebo štika, u kterých je toto nebezpečí reálné, je vhodné zpracovat co nejdříve ,v týdnech) od zmrazení (Nebeský *et* Bláha, 2012).

Rozmrazení ryby nebo polotovaru (kůže) doporučuji provést co nejrychleji. Nejlépe v nádrži s vlažnou vodou (20 – 25 °C). Ryba by měla být celá ponořená, aby docházelo k rovnoměrnému povolení svaloviny. V žádném případě nedoporučuji pomalé rozmrazování při pokojové teplotě nebo v chladničce. Dochází při něm ke spuštění činnosti proteolytických enzymů ve vnitřnostech ryb, rozvoji mikroorganismů na povrchu kůže a především žaber. Zároveň může dojít k možnému oschnutí povrchu těla a ploutví (Nebeský *et* Bláha, 2012).

3 Hypotézy a cíle

V bakalářské práci jsou stanoveny následující hypotézy:

H1: Předpokládá se, že běžně používané roztoky, respektive fixace rybích vzorků v 10% formaldehydu a konzervace vzorku v 70% ethanolu, mohou při ichtyologickém odběru vzorků a jejich uchování změnit hmotnost, délku a jiné morfometrické parametry vzorků ryb.

H2: Předpokládá se, že doba uchování, stáří odebraného vzorku (velikost jedinců) a rovněž druhová specifická jsou faktory určující různé morfometrické změny.

H3: Předpokládá se, že použitá metoda uchování s různou koncentrací jednotlivých roztoků a současně použití různé vody (destilovaná, kohoutková, mořská) mění jednotlivé parametry právě v závislosti na koncentraci a slanosti roztoků.

C1: Připravit 10% fixační a 70% konzervační činidlo(a) a založit fixační a konzervační pokus, při němž budou podrobeny analýze vybrané morfometrické znaky ryb.

C2: Fixační a konzervační pokus bude prováděn po takovou dobu, dokud budou zaznamenávány změny u vybraných parametrů, přičemž do pokusu bude zařazeno několik druhů ryb o různé velikosti.

C3: Zároveň budou v pokusu připraveny reagentie v různých skupinách (včetně mrazení), s různou koncentrací roztoků a s použitím různé vody (destilovaná, kohoutková a laboratorně připravená voda mořská).

4 Materiál a metodika

4.1 Popis vybraných druhů

Vybrané druhy ryb byly vybrány na základě zastoupení v běžné rybniční obsádce. Pro lepší přehled vybraných druhů ryb byla vytvořena tabulka (Tabulka 1) s druhem konzervace a čísla vzorků. Jednotlivé druhy a činidla jsou popsány v podkapitolách níže.

Tabulka 1 Seznam konzervačních roztoků a druhů ryb

Číslo vzorku	Druh konzervace	Druh ryby
1	mrazení (M)	Ježdík obecný
2	mrazení (M)	Ouklej obecná
3	mrazení (M)	Ouklej obecná
4	70% etanol + kohoutková voda (A)	Ježdík obecná
5	70% etanol + kohoutková voda (A)	Ouklej obecná
6	70% etanol + kohoutková voda (A)	Cejn velký
7	70% etanol + destilovaná voda (B)	Okoun říční
8	70% etanol + destilovaná voda (B)	Cejn velký
9	70% etanol + destilovaná voda (B)	Cejn velký
10	10% formalin + kohoutková voda (D)	Ježdík obecný
11	10% formalin + kohoutková voda (D)	Ouklej obecná
12	10% formalin + kohoutková voda (D)	Cejn velký
13	10% formalin + destilovaná voda (E)	Ježdík obecný
14	10% formalin + destilovaná voda (E)	Ouklej obecná
15	10% formalin + destilovaná voda (E)	Okoun říční
16	70% etanol + mořská voda (C)	Ježdík Obecný
17	70% etanol + mořská voda (C)	Ouklej obecná
18	70% etanol + mořská voda (C)	Ouklej obecná
19	10% formalin + mořská voda (F)	Ježdík obecný
20	10% formalin + mořská voda (F)	Ouklej obecná
21	10% formalin + mořská voda (F)	Cejn velký
22	destilovaná voda (W)	Ježdík obecný
23	destilovaná voda (W)	Ouklej obecná

Pozn.: Cv – cejn velký N = 5, Jež – ježdík obecný N = 7, Oř – okoun říční N = 2, Ouk – ouklej obecná N = 9.

4.1.1 Ježdík obecný (*Gymnocephalus cernuus*)

Hospodářský význam ježdíka je malý. Na většině tekoucích vod není příliš hojný a místy dokonce mizí. Pouze v některých nádržích a stojatých vodách tvoří ježdíci početná hejna a jsou významnou složkou potravy dravých ryb. Rybáři je tento druh příležitostně využíván jako nástražní ryбка a ojediněle je nebo spíše býval i konzumován. V tomto ohledu má daleko větší význam například v ruských vodách, kde je loven zcela běžně, ve Finsku byl nebo je dokonce chován uměle pro „ježdíkový kaviár“. Lusk *et al.* (1983) upozorňuje na to, že při vysokém výskytu jde ale o nežádoucí rybu, která požírá jikry a plůdek našim hodnotnějším druhům ryb.

4.1.2 Ouklej obecná (*Alburnus alburnus*)

Ouklej nemá velký hospodářský význam. V zahraničí je ojediněle lovena, protože její maso je poměrně kvalitní a zejména marinované oukleje jsou překvapivě chutné. V minulosti bývala ouklej lovena i pro potřeby šperkařství. Dnes je ouklej vnímána jako druh tvořící důležitou složku potravy dravců a používá se jako nástražní ryba.

Ouklej nemá přímé hospodářské využití, ale jelikož je významnou složkou potravy větších ryb, často ji vysazují do nádrží sportovní rybáři (Lusk *et al.*, 1992). Vytírá se během prvních 2–3 let života (Kottelat *et* Freyhof, 2007). Ouklej by pravděpodobně bylo možné využít jako vhodný bioindikátor změn faktorů vodního prostředí (Fouzia *et* Abdeslem, 2012), a to především díky typickému poměru pohlaví pro tento druh (68,4 % samic: 31,6 % samců), jehož odchylky se dají vztáhnout na abiotické změny prostředí (teplota, kyslík, pH).

4.1.3 Cejn velký (*Abramis brama*)

Cejn velký je hospodářsky významným druhem ve volných vodách, kde vytváří značnou část produkce populací ryb. Roční úlovek tohoto druhu na udici se pohybuje v rozmezí 250–350 tun, výlov sítěmi dosahuje 20–70 tun. Cejn velký je častým objektem lovu sportovních rybářů i pro jeho chutné maso dobré kvality (Hanel *et* Lusk, 2005).

4.1.4 Okoun říční (*Perca fluviatilis*)

Okoun říční je hospodářsky a sportovně ceněná ryba. Je důležitou složkou potravy štiky a candáta obecného (Vostardovský, 1971). V plůdkových výtažnicích při přemnožení může škodit na plůdku. (Dubský *et al.*, 2003).

Okoun je vyhledávaná a ceněná ryba pro sportovní rybáře, nejenom pro vlastní zážitek z lovu (Švátora, 1986), ale i pro jeho lahodnou chuť (Švátora, 1986; Dubský *et al.*, 2003). V rybničním hospodářství je doposud využíván jako druh, který se účelově využívá jako prostředek k potlačení plevelných ryb, čímž efektivně likviduje potravní konkurenty kapra v chovných rybnících (Polícar *et al.*, 2009). Tlaku okouna na drobné kaprovité ryby se také využívá ve vodárenských nádržích, kde jsou tyto ryby nežádoucí (Adámek *et al.*, 2010; Zapletal *et al.*, 2013). Na druhou stranu se okoun stává nežádoucím v plůdkových rybnících, kde se stává konkurentem a predátorem odchovávaných ryb (Dubský *et al.*, 2003) a zároveň může ve vodárenských nádržích působit společně s plevelnými druhy ryb a vytvářet tlak na hrubý zooplankton, následkem čehož by došlo k zhoršení kvality vody (Švátora, 1986; Zapletal *et al.*, 2013). V posledních několika desetiletích došlo k nárůstu poptávky po okouním masu (Polícar *et al.*, 2009), kdy je především okouní filet velice gastronomicky ceněn (Watson, 2008). Maso okouna dosahuje vysoké kvality a dobré chuti (Dubský *et al.*, 2003), zároveň nedochází v podmínkách intenzivního odchovu k jeho výrazným změnám vůči masu ryb z volných vod (Stejskal *et al.*, 2008; Stejskal *et al.*, 2011).

4.2 Původ získaného vzorku/vzorků, místo, datum, způsob odchovu

Vzorky pochází z výlovu ze Zlivského rybníka ležící v Českobudějovické pánvi v blízkosti obce Zliv ze dne 19. listopadu 2019. Jeho rozloha činí 30 ha, hloubka hráze může dosahovat až 8 m. Rybník je průtokový, voda přitéká Bezdrevským potokem a Zlivský rybník zásobuje vodou produkční rybník Bezdrev. Rybník je využíván hlavně pro intenzivní chov ryb. Břehy jsou lemovány hlavně rákosem, vrbami, olšemi či břízami.

4.3 Vážení a měření vzorků na začátku

Každému procesu měření předcházelo hrubé měření, aby mohla být ryba zařazena do určité kategorie a následně zvážena. Po zapsání váhy byla každá ryba vložena na pár vteřin do roztoku vody a pár kapek hřebíčkového oleje z důvodu omráčení.

V tomto případě možnost omráčení pomocí dřevěného topírka je nevhodná kvůli poškození různých částí ryb, které jsou potřebné pro sběr dat. Doba narkotizování byla dostačující na to, aby byla ryba přesně zvážena na digitální váze (Obrázek 9) a změřena pomocí šuplery (Obrázek 10). Aby nebyl narušen konzervační roztok právě tímto roztokem z oleje, každá ryba byla ponořena do kádinky s vodou, kde se zároveň probírala z omráčení.

Do předem nachystané nádoby s konzervačním roztokem proto mohla být dána ryba zcela dýchající a nekontaminována cizím roztokem, proto mohla být bylo důležité pro to, aby se ryba konzerovala i zevnitř a konzervační složky se dostaly do krevního oběhu.

Celkový počet 23 ryb byl rozdělen do tři skupin podle velikosti, a to na malou skupinu v rozmezí 7-9 centimetrů, střední skupina 10-12 centimetrů a skupinu velkých ryb v rozmezí 13-15 centimetrů. Z každé skupiny pak byla vybrána jedna ryba a přiřazena konzervačnímu roztoku.



Obrázek 9 Laboratorní digitální váha (Mettler Toledo $\pm 0,01$ g)



Obrázek 10 Digitální posuvné měřítko (Powerfix caliper)

4.4 Popis vybraných konzervačních prostředků

Konzervační látky jsou chemické látky, které brání množení mikroorganismů. Směsi konzervačních látek jsou vytvořené tak, aby při co nejmenším použitém množství zabránily růstu co nejširšímu spektru patogenních mikroorganismů, a tak se zabránilo biologickému rozkladu. U fixačních činidel především požadujeme rychlé pronikání do tkání a dobré zachování morfologických struktur.

4.4.1 Konzervační roztoky

Hlavní roli při mém pokusu fixace hrál 70% ethanol a 10% formalin. Obě tyto látky byly míchány s kohoutkovou vodou, destilovanou vodou a vodou mořskou jednotlivě, tudíž ryby byly konzervovány v šesti různých roztocích. Ethanol a formalin zaujímaly 700 ml a byly vždy dolity do 1 litru právě vodou kohoutkovou, destilovanou či mořskou. Pro lepší přehled viz tabulka níže (Tabulka 2).

Tabulka 2 Druh fixačních roztoků

Označení	Objem 700ml	+	Objem 300ml
A	70% ethanol		kohoutková voda
B	70% ethanol		destilovaná voda
C	70% ethanol		mořská voda
D	10% formalin		kohoutková voda
E	10% formalin		destilovaná voda
F	10% formalin		mořská voda
W	destilovaná voda		

Všechny tyto látky byly skladovány jednotlivě v kanystrech a řádně uchovány při laboratorní teplotě, která byla v průměru 20 °C. Při práci s nimi se vždy pracovalo v laboratorní digestoři s ochrannými pomůckami.

Mořská voda byla vždy připravována čerstvá (dle pokynů výrobce Marin Tropic), kdy na 1 litr roztoku byl potřeba 1 litr vody o teplotě 25 °C a 35 g mořské soli. Výrobce uvádí, že tato mořská sůl poskytuje ideální prostředí pro péči o všechny mořské živočichy v akváriu, včetně i těch nejcitlivějších druhů. Mnoho let je úspěšně používána v zoologických zahradách, veřejných a soukromých akváriích a vědeckých institucích po celém světě. Je vyrobena z čisté, farmaceuticky kvalitní soli. Obsahuje všech 70 stopových prvků

nalézajících se v přírodní mořské vodě, a to v přesných poměrech jako v přírodě. Neobsahuje dusičnany, fosfáty, ani jiné nežádoucí chemikálie.

Při každém měření byl míchán roztok nový a nádoby byly vždy pečlivě vymyty kvůli usazeninám na stěnách z těla ryb.

Pro uzavírání kádinek vlastních preparátů byl použit Parafilm se skleněným víkem nádob, který je nejméně náročný. Jak udává výrobce společnost One GREAT Future, jedná se o transparentní termoplastickou krycí fólii pro použití v laboratoři, kde jejím hlavním využitím je utěsnění otevřených lahví s chemikáliemi. Udržuje ztrátu vlhkosti na minimum a chrání obsah svých laboratorních předmětů flexibilním potahem pro zkumavky, kádinky, Petriho misky s rostoucími kulturami, proto jeho využití nachází i mikrobiologové nebo mykologové v laboratořích spolu se zdravotníky či farmaceuty. Je použitelný v teplotním rozsahu od -45 do +50 °C. Tato metoda se mi osvědčila zejména z toho důvodu, že jde o čistou a nenáročnou práci. Její efekt je velice dobrý a kdykoliv máme možnost nádobu otevřít z důvodu případných oprav a úprav. Výrobce apeluje na to, aby při práci s Parafilmem byl okraj nádoby i její uzávěr dokonale suchý a aby fólie dobře přilnula k povrchu nádoby i uzávěru. Při izolaci Parafilmem se musí ustříhnout dostatečně velký kousek, aby při jeho natahování vystačil minimálně na jedno obtočení kolem celého obvodu nádoby. Při každém měření ryb byl použit Parafilm nový.

4.4.2 Mrazení

Při postupu mrazení byly ryby po narkotizaci usmrceny a následně změřeny. Po důkladném opláchnutí destilovanou vodou následovalo uzavření do předem popsanych mikrotenových sáčků, které byly uloženy v mrazáku při -18 °C. Mezi jednotlivými měřeními nebyl mrazák otevírán, aby nebyl narušen proces konzervace.

4.5 Časy měření

První datum v tabulce níže (Tabulka 3) značí vždy měření ryb kategorie A, B, C a mrazení. Druhé datum, tedy následující den pak měření ryb kategorie D, E, F a W. První měření značí měření před začátkem konzervace, kdy následující čísla měření jsou již tedy

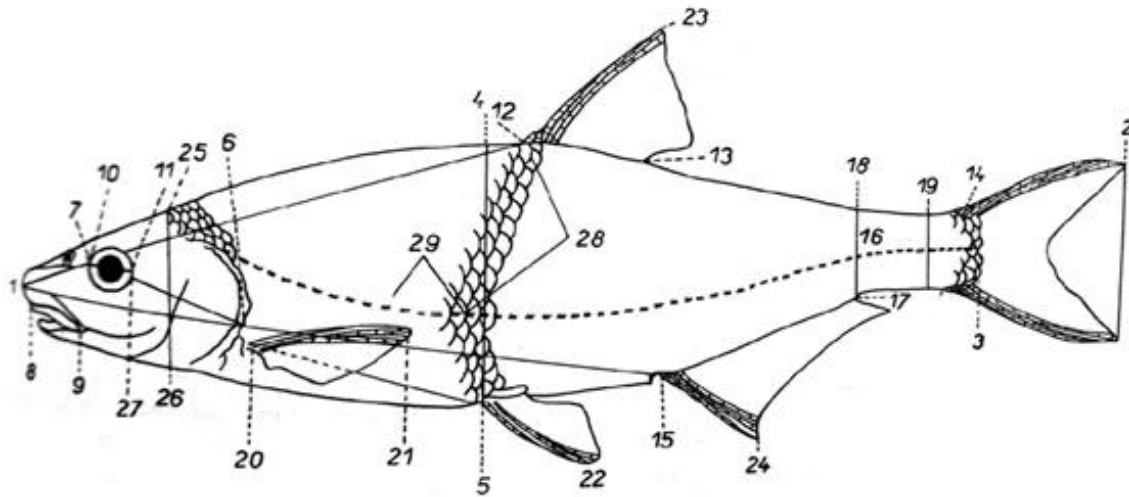
konzervační. Interval mezi jednotlivými měření dvou týdnů byl narušen z důvodu uzavření laboratoře, respektive uzavřením budovy z důvodu pandemie.

Tabulka 3 Data měření

Číslo měření	Datum měření
1.	19. + 20.11. 2019
2.	3. + 4.12. 2019
3.	17. + 18.12. 2019
4.	7. + 8.1. 2020
5.	21. + 22.1. 2020
6.	4. + 5.2. 2020
7.	18. + 19.2. 2020
8.	25. + 26.5. 2020

4.6 Vybrané morfometrické parametry ryb

Ze všech morfometrických rozměrů bylo vybráno 17 morfometrických parametrů (viz Tabulka 4 a Obrázek 11).



Obrázek 11 Plastické znaky ryb

Tabulka 4 Seznam měřených částí ryb

Označení	Zkratky	Plastické znaky
	WT	<i>number of specimens examined, m: weight</i>
1-2	LT	<i>Longitudo totalis</i>
1-3	LS	<i>Longitudo corporis</i>
	DINTOC	<i>Distantia interocularis</i>
1-12	LPRD	<i>Distantia praedorsalis</i>
1-5	LPRV	<i>Distantia praeventralis</i>
1-2	LPRP	<i>Distantia praepectoralis</i>
5-20	DINT	<i>Distantia inter</i>
5-15	DV-A	<i>Distantia pinnae ventralis et analis</i>
15-17	LA	<i>Longitudo analis</i>
15-24	AA	<i>Altitudo pinnae analis</i>
1-6	LH	<i>Longitudo capitis</i>
13-14	DPD	<i>Distantia postdorsalis</i>
12-13	LD	<i>Longitudo pinnae dorsalis</i>
10-11	DIOC	<i>Diameter oculi</i>
1-7	LPRO	<i>Distantia praeorbitalis</i>
14-2	LPC	<i>Longitudo pinnae caudalis</i>
1-15	LPRA	<i>Distantia praeanalis</i>

5 Výsledky

Formalin, ethanol, destilovaná voda a mrazení jsou různé konzervační metody, které byly použity pro různé druhy ryb z čeledi okounovité a kaprovité.

Pokus fixace v destilované vodě (W) byl následující měření ukončen z důvodu rychlého rozkladu tkáně ryb.

V tabulkách níže (Tabulka 5-12) jsou uvedeny sumarizované morfometrické parametry s naměřenými průměrnými hodnotami v jednotlivých měřeních. Největší rozdíl mezi 1. a 8. měřením byl u parametru DPD2 (4,73 mm), LT (4,09 mm), LS (3,02 mm), DV-A (2,88 mm) a u DPD (2,84 mm), které jsou níže znázorněny v grafu 1-7(Graf 1-7).

Tabulka 5 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u prvního měření

NofMeas=1 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	23	108,78	78,07	149,96	576,12	24,00	5,00
LS	23	88,76	65,30	120,93	367,07	19,16	3,99
DINTOC	23	7,57	3,29	11,26	6,09	2,47	0,51
LPRD	23	41,83	23,07	65,36	221,78	14,89	3,11
LPRV	23	38,02	21,58	60,38	139,29	11,80	2,46
LPRP	23	23,31	18,56	33,99	15,39	3,92	0,82
DINT	23	17,35	6,52	31,97	67,41	8,21	1,71
DV-A	23	23,48	18,06	41,14	22,28	4,72	0,98
LA	23	14,86	7,40	36,60	75,42	8,68	1,81
AA	23	15,61	10,56	22,94	13,14	3,62	0,76
LH	23	22,94	18,42	33,34	14,03	3,75	0,78
DPD	23	26,51	10,24	44,80	131,14	11,45	2,39
DPD2	2	17,47	15,50	19,43	7,72	2,78	1,97
LD	23	23,32	12,36	40,48	105,99	10,30	2,15
LD2	2	16,94	12,00	21,87	48,71	6,98	4,94
DIOC	23	7,23	5,87	9,20	0,68	0,83	0,17
LPRO	23	6,34	4,45	8,83	1,62	1,27	0,27
LPC	23	21,94	13,20	34,54	42,78	6,54	1,36
LPRA	23	60,38	40,84	88,32	172,01	13,12	2,73

Tabulka 6 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u druhého měření

NofMeas=2 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	21	108,41	79,26	146,56	567,71	23,83	5,20
LS	21	88,26	63,37	120,33	352,57	18,78	4,10
DINTOC	21	7,25	3,19	10,35	5,48	2,34	0,51
LPRD	21	42,05	23,06	64,00	228,59	15,12	3,30
LPRV	21	38,11	22,33	58,26	133,48	11,55	2,52
LPRP	21	23,19	18,84	33,02	13,75	3,71	0,81
DINT	21	17,48	6,62	30,55	66,47	8,15	1,78
DV-A	21	22,68	17,85	37,03	17,02	4,13	0,90
LA	21	15,47	7,16	35,21	92,48	9,62	2,10
AA	21	15,69	10,07	24,36	18,86	4,34	0,95
LH	21	22,93	17,43	37,23	19,50	4,42	0,96
DPD	21	25,28	10,06	39,23	101,80	10,09	2,20
DPD2	2	14,32	14,27	14,37	0,01	0,07	0,05
LD	21	22,82	13,11	39,86	109,67	10,47	2,29
LD2	2	17,27	13,89	20,65	22,85	4,78	3,38
DIOC	21	6,97	5,75	9,90	0,92	0,96	0,21
LPRO	21	38,76	4,60	688,00	22130,79	148,76	32,46
LPC	21	22,15	13,11	34,20	46,96	6,85	1,50
LPRA	21	59,74	40,55	86,36	165,21	12,85	2,80

Tabulka 7 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u třetího měření

NofMeas=3 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	21	107,48	74,06	146,51	575,69	23,99	5,24
LS	21	87,39	62,05	119,90	342,50	18,51	4,04
DINTOC	21	6,86	2,83	10,21	5,14	2,27	0,49
LPRD	21	41,30	21,46	63,09	225,68	15,02	3,28
LPRV	21	37,26	21,47	57,28	131,95	11,49	2,51
LPRP	21	22,55	18,06	31,16	12,36	3,52	0,77
DINT	21	16,54	5,53	29,71	63,06	7,94	1,73
DV-A	21	22,24	18,24	36,74	17,80	4,22	0,92
LA	21	14,51	7,04	33,70	85,75	9,26	2,02
AA	21	15,40	9,96	23,28	15,14	3,89	0,85
LH	21	22,35	17,05	35,87	18,10	4,25	0,93
DPD	21	28,36	8,63	101,00	391,12	19,78	4,32
DPD2	2	14,43	13,38	15,48	2,21	1,48	1,05
LD	21	25,27	11,04	101,00	411,40	20,28	4,43
LD2	2	15,59	10,66	20,51	48,51	6,97	4,93
DIOC	21	6,48	5,21	8,22	0,73	0,85	0,19
LPRO	21	5,84	4,07	7,90	1,09	1,04	0,23
LPC	21	21,60	12,26	33,89	47,90	6,92	1,51
LPRA	21	58,84	40,69	86,28	168,47	12,98	2,83

Tabulka 8 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u čtvrtého měření

NofMeas=4 Popisné statistiky (Velikosti ryb)								
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba	
LT	21	104,83	73,83	146,48	504,04	22,45	4,90	
LS	21	86,70	62,05	119,80	345,66	18,59	4,06	
DINTOC	21	6,62	2,77	10,11	5,27	2,30	0,50	
LPRD	21	40,62	20,99	62,50	226,52	15,05	3,28	
LPRV	21	36,59	20,11	56,70	130,05	11,40	2,49	
LPRP	21	21,98	17,68	31,03	12,04	3,47	0,76	
DINT	21	16,17	5,36	29,52	62,01	7,87	1,72	
DV-A	21	21,59	17,90	36,27	17,74	4,21	0,92	
LA	21	14,05	6,98	32,96	83,63	9,14	2,00	
AA	21	15,07	9,38	22,89	15,05	3,88	0,85	
LH	21	21,98	17,07	35,25	16,72	4,09	0,89	
DPD	21	24,20	7,26	38,07	114,13	10,68	2,33	
DPD2	2	14,08	12,95	15,21	2,55	1,60	1,13	
LD	21	21,04	10,25	38,14	112,19	10,59	2,31	
LD2	2	14,92	10,41	19,43	40,68	6,38	4,51	
DIOC	21	6,18	4,52	7,78	0,78	0,89	0,19	
LPRO	21	5,41	3,95	7,68	0,92	0,96	0,21	
LPC	21	21,05	11,98	33,06	47,89	6,92	1,51	
LPRA	21	58,29	39,99	85,73	161,84	12,72	2,78	

Tabulka 9 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u pátého měření

NofMeas=5 Popisné statistiky (Velikosti ryb)								
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba	
LT	21	105,64	73,53	146,06	557,99	23,62	5,15	
LS	21	86,24	62,03	118,52	341,54	18,48	4,03	
DINTOC	21	6,33	2,67	9,44	4,71	2,17	0,47	
LPRD	21	40,05	20,86	61,98	223,20	14,94	3,26	
LPRV	21	36,25	20,08	56,32	128,29	11,33	2,47	
LPRP	21	21,70	17,43	31,00	12,75	3,57	0,78	
DINT	21	15,98	5,30	28,71	61,01	7,81	1,70	
DV-A	21	21,41	17,04	36,25	17,98	4,24	0,93	
LA	21	13,78	6,70	32,42	81,31	9,02	1,97	
AA	21	14,87	9,00	22,70	14,96	3,87	0,84	
LH	21	21,59	16,43	34,72	16,52	4,06	0,89	
DPD	21	23,96	7,21	38,05	113,25	10,64	2,32	
DPD2	2	13,31	11,97	14,64	3,56	1,89	1,34	
LD	21	20,56	9,32	37,29	112,03	10,58	2,31	
LD2	2	14,80	10,21	19,39	42,14	6,49	4,59	
DIOC	21	5,88	4,51	7,54	0,60	0,77	0,17	
LPRO	21	5,12	3,33	7,55	1,05	1,02	0,22	
LPC	21	20,30	8,93	32,71	53,35	7,30	1,59	
LPRA	21	57,94	39,99	85,43	161,22	12,70	2,77	

Tabulka 10 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u šestého měření

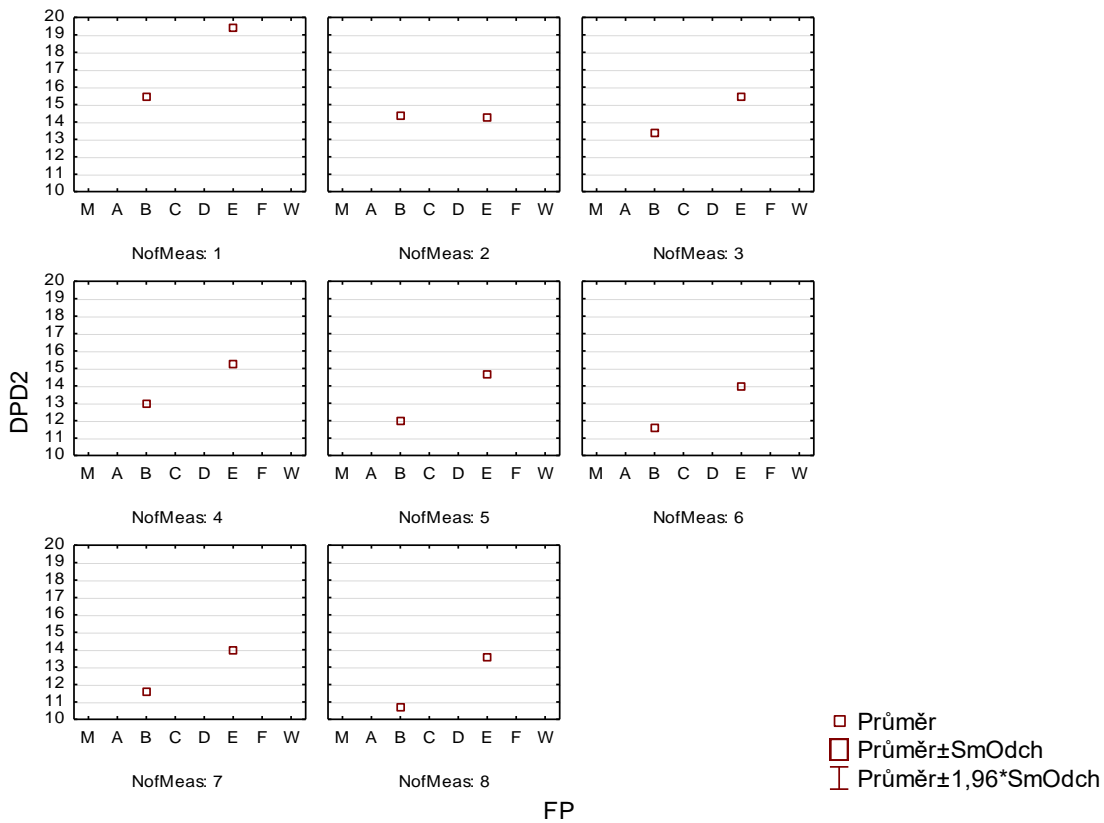
NofMeas=6 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	21	105,19	73,26	145,75	561,68	23,70	5,17
LS	21	86,03	61,99	118,30	342,37	18,50	4,04
DINTOC	21	6,23	2,62	9,36	4,67	2,16	0,47
LPRD	21	38,36	20,77	61,52	228,23	15,11	3,30
LPRV	21	36,06	20,04	56,18	127,64	11,30	2,47
LPRP	21	21,58	17,39	30,96	12,89	3,59	0,78
DINT	21	15,86	5,31	28,62	59,97	7,74	1,69
DV-A	21	21,33	17,17	36,15	17,78	4,22	0,92
LA	21	13,70	6,70	32,41	80,76	8,99	1,96
AA	21	14,85	9,01	22,62	14,79	3,85	0,84
LH	21	21,43	16,50	34,47	16,16	4,02	0,88
DPD	21	23,75	7,18	37,84	112,63	10,61	2,32
DPD2	2	12,78	11,59	13,96	2,81	1,68	1,19
LD	21	20,43	9,30	37,18	110,55	10,51	2,29
LD2	2	14,78	10,16	19,39	42,60	6,53	4,62
DIOC	21	5,87	4,49	7,52	0,56	0,75	0,16
LPRO	21	5,06	3,31	7,45	1,05	1,02	0,22
LPC	21	20,68	11,51	32,71	47,73	6,91	1,51
LPRA	21	56,31	29,41	85,39	198,84	14,10	3,08

Tabulka 11 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u sedmého měření

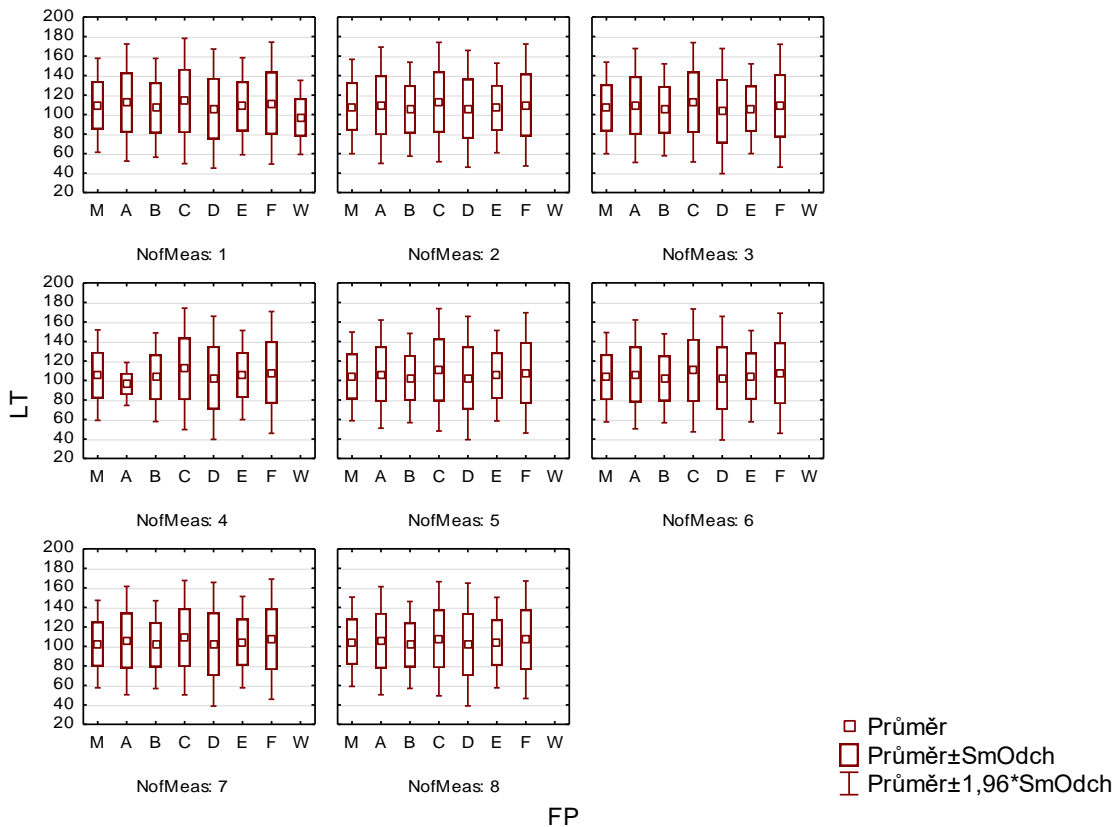
NofMeas=7 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	21	104,69	73,00	141,72	542,71	23,30	5,08
LS	21	85,74	61,88	118,27	340,52	18,45	4,03
DINTOC	21	6,21	2,62	9,36	4,65	2,16	0,47
LPRD	21	39,70	20,76	61,46	220,03	14,83	3,24
LPRV	21	35,99	20,61	56,02	126,56	11,25	2,45
LPRP	21	21,53	17,30	30,95	13,02	3,61	0,79
DINT	21	15,78	5,27	28,16	59,17	7,69	1,68
DV-A	21	20,60	8,65	36,13	25,24	5,02	1,10
LA	21	13,66	6,64	32,34	80,48	8,97	1,96
AA	21	14,78	9,00	22,57	14,68	3,83	0,84
LH	21	21,38	16,45	34,67	16,47	4,06	0,89
DPD	21	23,67	7,11	37,83	111,96	10,58	2,31
DPD2	2	12,74	11,56	13,92	2,78	1,67	1,18
LD	21	20,35	9,30	36,43	108,87	10,43	2,28
LD2	2	14,74	10,14	19,34	42,32	6,51	4,60
DIOC	21	5,83	4,49	7,52	0,58	0,76	0,17
LPRO	21	5,04	3,29	7,43	1,05	1,02	0,22
LPC	21	20,24	11,52	32,65	43,80	6,62	1,44
LPRA	21	57,55	39,20	85,36	161,67	12,71	2,77

Tabulka 12 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u osmého měření

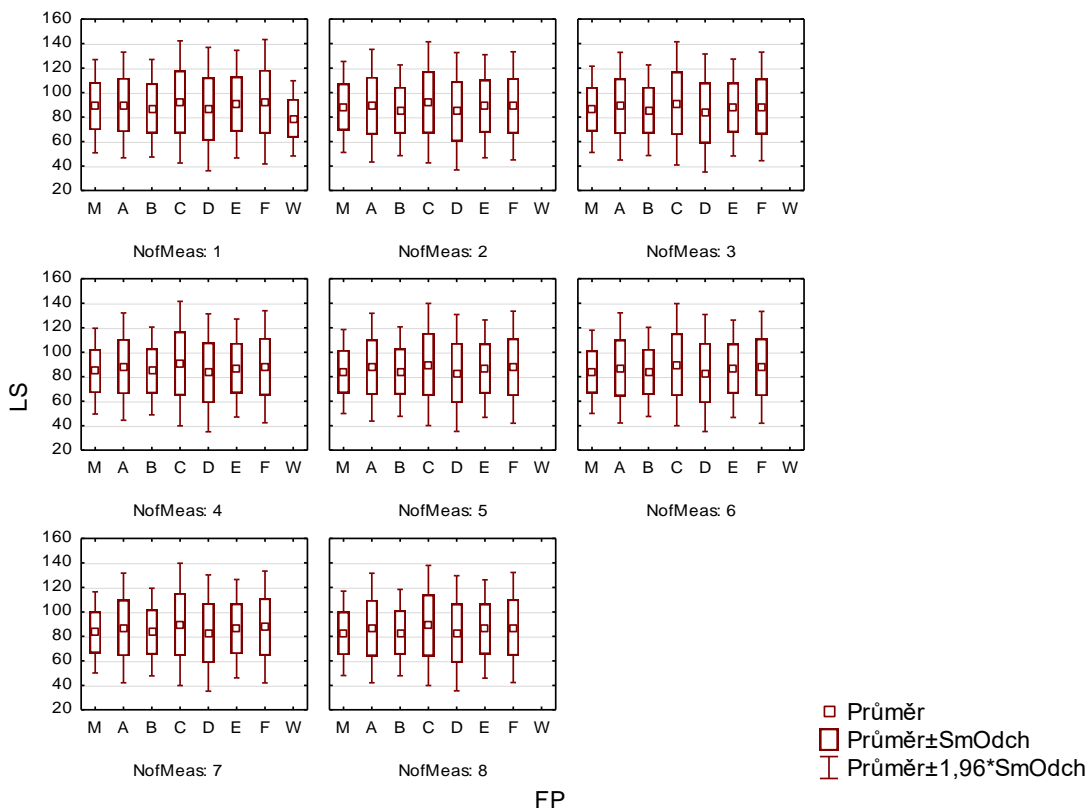
NofMeas=8 Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm.odch.	Směrod. Chyba
LT	21	104,66	73,00	140,68	534,49	23,12	5,05
LS	21	85,32	61,79	117,02	336,39	18,34	4,00
DINTOC	21	6,07	2,59	9,21	4,35	2,08	0,45
LPRD	21	39,49	20,73	61,37	221,13	14,87	3,24
LPRV	21	35,58	20,58	55,22	122,98	11,09	2,42
LPRP	21	21,21	17,14	30,95	12,38	3,52	0,77
DINT	21	15,82	5,22	28,76	63,46	7,97	1,74
DV-A	21	21,06	17,04	36,13	18,33	4,28	0,93
LA	21	13,54	6,27	31,90	80,21	8,96	1,95
AA	21	14,63	8,89	22,43	14,65	3,83	0,84
LH	21	21,23	16,47	34,33	16,36	4,05	0,88
DPD	21	23,20	2,75	37,63	121,70	11,03	2,41
DPD2	2	12,14	10,66	13,62	4,38	2,09	1,48
LD	21	20,09	9,29	36,42	108,54	10,42	2,27
LD2	2	14,59	10,00	19,18	42,14	6,49	4,59
DIOC	21	5,75	4,45	7,43	0,60	0,77	0,17
LPRO	21	4,96	3,26	7,30	1,03	1,01	0,22
LPC	21	20,10	11,48	32,63	43,80	6,62	1,44
LPRA	21	57,21	39,20	84,29	157,72	12,56	2,74



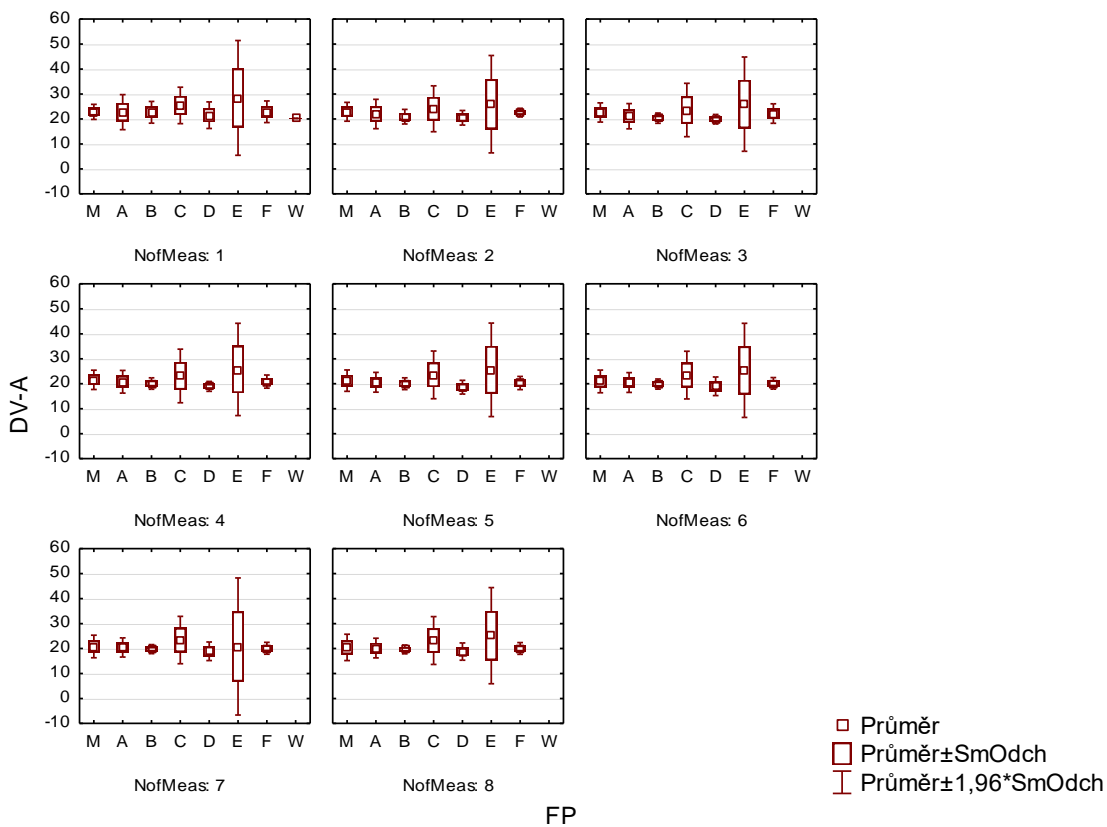
Graf 1 Kategorizované krabicové grafy parametru DPD2 v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační činidla



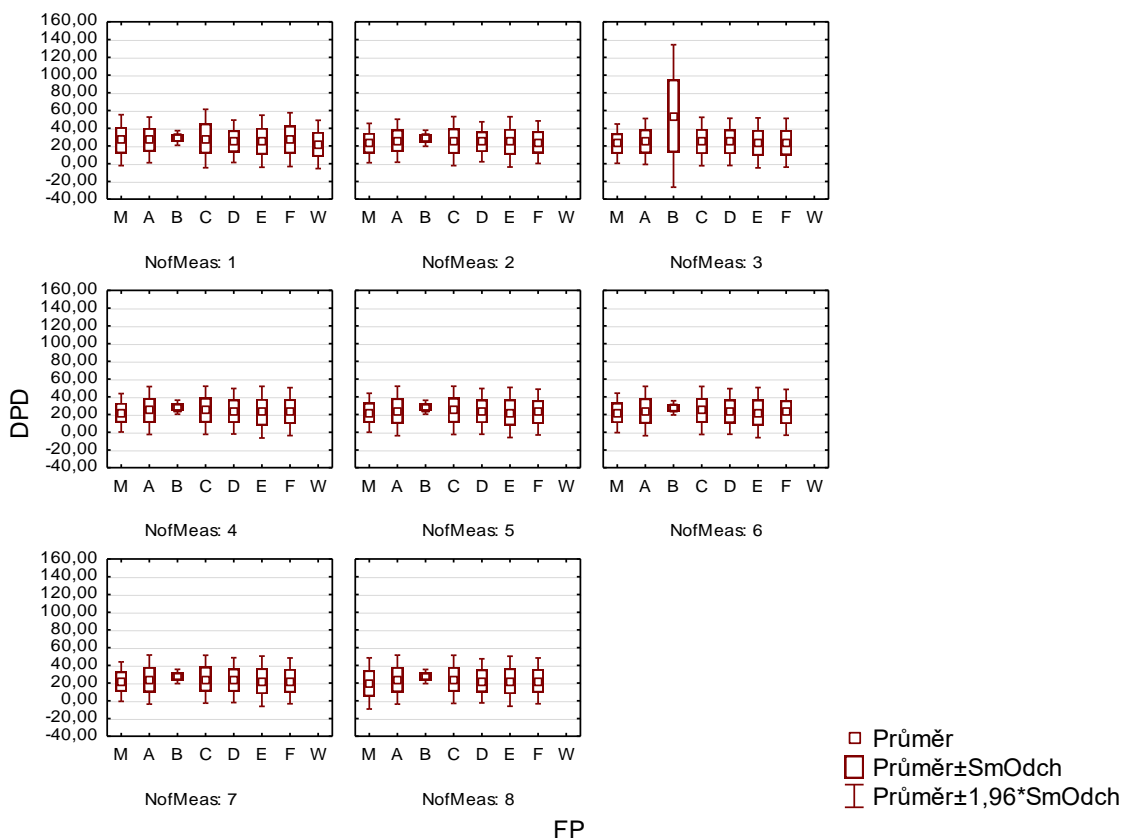
Graf 2 Kategorizované krabicové grafy parametru LT v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační činidla



Graf 3 Kategorizované krabicové grafy parametru LS v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační činidla



Graf 4 Kategorizované krabicové grafy parametru DV-A v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační činidla



Graf 5 Kategorizované krabicové grafy parametru DPD v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační činidla

Porovnání v jednotlivých konzervačních skupinách je uvedeno v tabulkách 13–19. Zde jsou popisnou statistikou zhodnoceny rovněž základní charakteristiky (např.: průměr, rozpětí, rozptyl apod.) dle jednotlivé konzervační metody. Žlutě jsou vyznačené (podbarvené) vybrané morfometrické parametry (LS, DINTOC, LPRD, LPRV, LPRP, DINT, DV-A, LA), které jsou pravděpodobně nejvíce ovlivněny a je vypočítán procentuální rozdíl změny mezi 1. a 8. měřením u jednotlivých konzervačních metod, přičemž jednotlivé vybrané parametry byly mezi sebou následně porovnány (B – DINT, DV-A, M- DINTOC, LS, C – LA, E – LPRD, F – LPRP, LPRV). Naproti tomu, zeleně jsou podbarveny v uvedených tabulkách ty parametry a hodnoty, které se ukazují jako nejméně ovlivněné (např. u F – DINT, DINTOC, dále u E – DINT, LA, u C – DV-A, u D – LA, LPRD, LPRP, LPRV, u A – LS). Pravděpodobně vyhodnocené výraznější procentuální změny byly tedy evidovány u skupin M, B a F. Nejmenší vliv konzervačních metod byl zaznamenán u skupiny D a následně F. Je patrné, že zejména u skupiny F by bylo zapotřebí, aby byly vyhodnoceny všechny sledované parametry.

Tabulka 13 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací mrazem (M)

FP=M Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	105,61	79,21	132,50	53,29	397,06	19,93
LS	24	85,26	65,59	108,67	43,08	229,38	15,15
DINTOC	24	6,44	2,59	10,75	8,16	7,87	2,81
LPRD	24	39,82	21,74	56,85	35,11	159,33	12,62
LPRV	24	38,08	22,01	53,25	31,24	134,37	11,59
LPRP	24	21,78	18,97	24,89	5,92	3,57	1,89
DINT	24	17,75	6,19	28,19	22,00	65,46	8,09
DV-A	24	21,67	17,97	24,73	6,76	4,05	2,01
LA	24	10,14	7,68	14,93	7,25	5,43	2,33
AA	24	14,32	11,16	18,74	7,58	5,23	2,29
LH	24	21,56	18,87	25,12	6,25	3,80	1,95
DPD	24	22,45	2,75	38,73	35,98	107,31	10,36
DPD2	0						
LD	24	21,18	11,18	38,53	27,35	108,98	10,44
LD2	0						
DIOC	24	6,63	5,24	8,26	3,02	0,80	0,90
LPRO	24	5,47	3,87	7,08	3,21	0,83	0,91
LPC	24	21,93	13,51	28,81	15,30	36,26	6,02
LPRA	24	58,03	29,41	77,42	48,01	182,88	13,52

Pozn.: žlutě zvýrazněn maximální efekt

Tabulka 14 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s kohoutkovou vodou (A)

FP=A Popisné statistiky (Velikosti ryb)							
Proměnná	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	106,54	82,05	146,61	64,56	550,01	23,45
LS	24	88,13	68,81	115,74	46,93	358,99	18,95
DINTOC	24	6,99	3,66	11,26	7,60	5,79	2,41
LPRD	24	42,28	21,47	65,36	43,89	272,41	16,50
LPRV	24	37,03	22,82	50,81	27,99	116,37	10,79
LPRP	24	22,35	17,87	28,62	10,75	10,79	3,28
DINT	24	16,57	6,32	24,49	18,17	54,14	7,36
DV-A	24	21,03	17,92	26,60	8,68	5,05	2,25
LA	24	16,59	6,82	36,60	29,78	144,24	12,01
AA	24	15,77	11,57	23,72	12,15	25,39	5,04
LH	24	21,61	17,39	27,07	9,68	8,81	2,97
DPD	24	24,81	8,80	39,49	30,69	131,08	11,45
DPD2	0						
LD	24	20,95	11,70	37,27	25,57	125,81	11,22
LD2	0						
DIOC	24	6,22	4,80	8,25	3,45	0,75	0,86
LPRO	24	5,53	3,58	7,22	3,64	1,32	1,15
LPC	24	21,67	8,93	34,54	25,61	79,99	8,94
LPRA	24	58,11	45,00	74,02	29,02	118,23	10,87

Pozn.: zeleně zvýrazněn minimální efekt

Tabulka 15 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s destilovanou vodou (B)

Proměnná	FP=B Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	103,59	78,54	133,36	54,82	396,70	19,92
LS	24	84,73	66,14	108,80	42,66	246,46	15,70
DINTOC	24	6,75	4,33	9,53	5,20	2,48	1,57
LPRD	24	42,15	21,37	59,76	38,39	231,69	15,22
LPRV	24	35,09	22,90	47,80	24,90	86,34	9,29
LPRP	24	20,71	17,40	25,66	8,26	6,60	2,57
DINT	24	15,28	5,22	24,76	19,54	51,00	7,14
DV-A	24	20,41	18,66	24,06	5,40	2,11	1,45
LA	24	18,40	6,63	30,87	24,24	81,19	9,01
AA	24	15,51	8,89	21,99	13,10	21,22	4,61
LH	24	20,66	16,73	25,28	8,55	6,62	2,57
DPD	24	31,32	24,16	101,00	76,84	232,64	15,25
DPD2	8	12,75	10,66	15,50	4,84	2,62	1,62
LD	24	18,74	9,29	101,00	91,71	328,52	18,13
LD2	8	10,93	10,00	13,89	3,89	1,84	1,35
DIOC	24	6,07	4,75	7,74	2,99	0,86	0,93
LPRO	24	4,91	3,26	7,77	4,51	1,44	1,20
LPC	24	19,55	12,02	28,64	16,62	27,77	5,27
LPRA	24	55,61	43,96	68,55	24,59	83,66	9,15

Pozn.: žlutě zvýrazněn maximální efekt

Tabulka 16 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s mořskou vodou (C)

Proměnná	FP=C Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	111,16	82,35	149,96	67,61	689,30	26,25
LS	24	90,62	68,92	120,93	52,01	452,49	21,27
DINTOC	24	6,69	4,01	10,64	6,63	4,36	2,09
LPRD	24	41,87	22,71	63,84	41,13	249,72	15,80
LPRV	24	39,66	21,19	60,38	39,19	207,19	14,39
LPRP	24	22,66	18,42	28,93	10,51	12,84	3,58
DINT	24	18,91	6,64	31,97	25,33	87,76	9,37
DV-A	24	23,74	18,36	29,53	11,17	17,06	4,13
LA	24	10,06	7,21	16,87	9,66	7,06	2,66
AA	24	15,22	12,22	20,29	8,07	7,96	2,82
LH	24	22,59	17,99	27,31	9,32	9,63	3,10
DPD	24	25,21	9,99	44,80	34,81	143,80	11,99
DPD2	0						
LD	24	22,40	13,45	36,99	23,54	102,45	10,12
LD2	0						
DIOC	24	6,47	5,43	8,34	2,91	0,63	0,79
LPRO	24	5,52	3,90	7,47	3,57	1,28	1,13
LPC	24	21,61	11,48	32,76	21,28	63,00	7,94
LPRA	24	63,69	45,13	88,32	43,19	284,39	16,86

Pozn.: žlutě zvýrazněn maximální efekt, zeleně zvýrazněn efekt minimální

Tabulka 17 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s kohoutkovou vodou (D)

Proměnná	FP=D Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	103,43	73,00	139,69	66,69	713,69	26,72
LS	24	83,64	61,79	115,11	53,32	420,68	20,51
DINTOC	24	6,20	2,76	10,81	8,05	6,58	2,57
LPRD	24	40,12	20,73	61,63	40,90	262,46	16,20
LPRV	24	35,38	20,04	50,49	30,45	133,75	11,57
LPRP	24	21,20	17,14	27,95	10,81	13,26	3,64
DINT	24	15,78	5,30	24,72	19,42	56,96	7,55
DV-A	24	19,51	17,04	23,73	6,69	3,05	1,75
LA	24	16,56	6,27	35,03	28,76	134,16	11,58
AA	24	15,12	10,41	23,08	12,67	20,90	4,57
LH	24	20,46	16,43	26,37	9,94	12,64	3,55
DPD	24	23,94	9,00	37,09	28,09	114,55	10,70
DPD2	0						
LD	24	19,15	10,55	31,02	20,47	66,16	8,13
LD2	0						
DIOC	24	5,88	4,67	7,50	2,83	0,66	0,81
LPRO	24	33,62	4,13	688,00	683,87	19427,83	139,38
LPC	24	21,08	12,04	31,74	19,70	50,10	7,08
LPRA	24	55,24	39,20	73,13	33,93	166,19	12,89

Pozn.: zeleně zvýrazněn minimální efekt

Tabulka 18 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s destilovanou vodou (E)

Proměnná	FP=E Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	105,57	82,79	136,80	54,01	398,13	19,95
LS	24	87,46	69,83	116,02	46,19	302,38	17,39
DINTOC	24	6,43	3,99	9,95	5,96	3,68	1,92
LPRD	24	33,72	23,37	44,36	20,99	59,30	7,70
LPRV	24	34,15	23,43	41,08	17,65	49,80	7,06
LPRP	24	24,11	18,32	33,99	15,67	31,46	5,61
DINT	24	12,94	6,80	21,35	14,55	30,20	5,50
DV-A	24	25,36	8,65	41,14	32,49	81,78	9,04
LA	24	10,67	8,64	13,96	5,32	1,95	1,40
AA	24	13,54	13,03	14,32	1,29	0,11	0,34
LH	24	24,99	18,00	37,23	19,23	54,76	7,40
DPD	24	23,11	7,11	40,98	33,87	148,83	12,20
DPD2	8	15,07	13,62	19,43	5,81	3,53	1,88
LD	24	28,95	11,45	40,48	29,03	145,50	12,06
LD2	8	19,97	19,18	21,87	2,69	0,91	0,95
DIOC	24	6,41	4,45	9,90	5,45	2,41	1,55
LPRO	24	6,28	3,86	9,15	5,29	2,82	1,68
LPC	24	19,18	14,18	23,34	9,16	9,89	3,14
LPRA	24	59,47	45,15	78,27	33,12	136,67	11,69

Pozn.: žlutě zvýrazněn maximální efekt, zeleně zvýrazněn efekt minimální

Tabulka 19 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s mořskou vodou (F)

Proměnná	FP=F Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	24	108,53	76,80	143,65	66,85	698,07	26,42
LS	24	88,61	64,96	119,79	54,83	384,66	19,61
DINTOC	24	7,06	3,56	10,35	6,79	5,79	2,41
LPRD	24	43,57	22,05	64,43	42,38	273,94	16,55
LPRV	24	38,16	21,05	52,53	31,48	157,42	12,55
LPRP	24	22,29	19,11	29,33	10,22	10,21	3,20
DINT	24	17,59	6,00	28,76	22,76	70,18	8,38
DV-A	24	21,13	19,24	25,06	5,82	2,86	1,69
LA	24	17,35	7,48	35,21	27,73	119,20	10,92
AA	24	16,51	11,58	24,36	12,78	20,53	4,53
LH	24	22,12	19,21	28,81	9,60	10,02	3,17
DPD	24	23,62	8,24	40,95	32,71	130,18	11,41
DPD2	0						
LD	24	20,72	11,92	36,01	24,09	96,16	9,81
LD2	0						
DIOC	24	6,33	5,40	7,90	2,50	0,43	0,66
LPRO	24	5,64	4,30	8,14	3,84	0,94	0,97
LPC	24	22,28	12,32	30,73	18,41	54,83	7,41
LPRA	24	58,38	40,85	73,69	32,84	165,92	12,88

Pozn.: žlutě zvýrazněn maximální efekt, zeleně zvýrazněn efekt minimální

Tabulka 20 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací destilovanou vodou (W)

Proměnná	FP=W Popisné statistiky (Velikosti ryb)						
	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozpětí	Rozptyl	Sm.odch.
LT	2	97,16	83,45	110,87	27,42	375,93	19,39
LS	2	78,94	67,86	90,02	22,16	245,53	15,67
DINTOC	2	6,77	4,64	8,90	4,26	9,07	3,01
LPRD	2	35,28	23,07	47,49	24,42	298,17	17,27
LPRV	2	33,08	21,58	44,58	23,00	264,50	16,26
LPRP	2	21,21	21,07	21,34	0,27	0,04	0,19
DINT	2	14,75	6,52	22,97	16,45	135,30	11,63
DV-A	2	20,24	20,21	20,27	0,06	0,00	0,04
LA	2	10,04	8,67	11,40	2,73	3,73	1,93
AA	2	13,02	12,43	13,60	1,17	0,68	0,83
LH	2	21,16	20,96	21,36	0,40	0,08	0,28
DPD	2	21,75	11,91	31,58	19,67	193,45	13,91
DPD2	0						
LD	2	24,06	13,32	34,79	21,47	230,48	15,18
LD2	0						
DIOC	2	6,22	6,02	6,41	0,39	0,08	0,28
LPRO	2	6,11	5,33	6,88	1,55	1,20	1,10
LPC	2	19,02	14,21	23,82	9,61	46,18	6,80
LPRA	2	53,78	43,52	64,03	20,51	210,33	14,50

Baruš *et al.*, (1995) popisují jednotlivé plastické znaky v procentuálním vyjádření vzhledem k celkové délce či hlavě ryb. K porovnání hodnot byly ke každému druhu vybrány pouze některé části. V tabulkách (Tabulka 21–24) níže jsou shrnuty pouze některé vybrané hodnoty, které byly u Baruš *et al.*, (1995) popsány.

Tabulka 21 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u ježdíka obecného (*Gymnocephalus cernuus*) ze skupiny M

Plastický znak	LH	LA	LPC
Baruš <i>et al.</i>, (1995)	28 – 35 %	9 – 14 %	17 – 24 %
1.měření (před začátkem konzervace)	31,71 %	10,20 %	17,57 %
2. měření	21,88 %	10,11 %	17,49 %
8. měření	29,65 %	9,70 %	17,10 %

Tabulka 22 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) ze skupiny B

Plastický znak	LPRD	LPRV	LH
Baruš, Oliva <i>a kol.</i>	26,4 – 36 %	31,2 – 40 %	25,2 – 38 %
1.měření (před začátkem konzervace)	30,87 %	30,99 %	27,50 %
2. měření	28,62 %	30,87 %	27,65 %
8. měření	27,21 %	29,16 %	25,11 %

Tabulka 23 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u oukleje obecné (*Alburnus alburnus*) ze skupiny F

Plastický znak	DIOC	LD	LPRA
Baruš, Oliva <i>a kol.</i>	21,3 – 33,4 %	10 – 13 %	60 – 70 %
1.měření (před začátkem konzervace)	28,76 %	12,81 %	56,74 %
2. měření	30,97 %	13,49 %	58,36 %
8. měření	25,46 %	11,31 %	57,96 %

Tabulka 24 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u cejna velkého (*Abramis brama*) ze skupiny C

Plastický znak	LH	LD	DIOC
Baruš, Oliva a kol.	18,1 – 25 %	12 – 31 %	21,3 – 33,4 %
1.měření (před začátkem konzervace)	18,59 %	11,48 %	28,76 %
2. měření	18,90 %	12,20 %	30,97 %
8. měření	17,80 %	11,17 %	25,46 %

6 Závěr a doporučení pro ichtyologickou praxi

V pokusu je zahrnuto 6 konzervačních a fixačních metod (skupiny A – F) +2 (skupiny M, W) a 4 druhy ryb (*Abramis brama*, *Alburnus alburnus*, *Gymnocephalus cernuus* a *Perca fluviatilis*).

Porovnání účinků jednotlivých konzervačních metod a činidel prezentuje rozdílné vlivy na sledované morfometrické ukazatele. U všech vybraných parametrů došlo ke změně ve velikosti (délky, vzdálenosti, výšky apod.) a to nejen v případě měření daných parametrů ve velikosti bez užití konzervačního činidla a prvním či jiném měření (následujícím měřením 1 – 8), ale i změně při samotném užití konzervačních způsobů (skupin M, A – F, W).

Z výsledků práce je evidentní, že destilovaná voda je nejméně vhodnou metodou a lze ji použít pro nejkratší možnou dobu, po 4 dnech již nebylo možné vzhledem ke stavu ryb ani měření provést.

Na základě pozorování během jednotlivých měření je patrný výraznější efekt změn ve velikosti parametrů u skupin s ethanolem nežli u formalinu, kde jsou vzorky v nejlepší stavu. U skupin vzorků, ve kterých je přimíchána mořská sůl, je evidentní jakýsi pokryv soli, což má podle subjektivního pozorování vliv na oko ryb (zvýšené zapadnutí) a dále na celkové výraznější vyblednutí vzorků.

Lze předpokládat, že další vyhodnocení změn jednotlivých parametrů vzhledem k metodě, ukáže na adekvátní signifikantní změny (statisticky významné) některých ze sledovaných ukazatelů, na které pak má konzervační metoda nejvýraznější efekt. To znamená, že konzervační činidlo má signifikantní vliv na pokles morfometrických ukazatelů. Není však jasné jednoznačně, respektive nelze zatím z výsledků usuzovat, že se vzrůstajícím časem (delší konzervací a fixací) dochází k postupné výraznější změně, tedy k většímu efektu či naopak.

Z výše uvedeného vyplývá, že v další práci (diplomové práci) se bude muset na tento stav reagovat nejen navýšením vzorků, ale také i doplněním druhového spektra ryb v prováděném pokusu.

Při vlastním měření jednotlivých ukazatelů je důležité zejména dávat pozor, aby byla konzervační činidla správně připravena. Podcenit by se neměla ani příprava předem vybraných parametrů, které budou sledovány. Práce je poměrně časově náročná, proto je adekvátně obtížné analyzovat najednou mnoho druhů ryb a současně mnoho konzervačních

činidel, a případně k tomu mít ještě různé velikostní kategorie. Je vhodné mít na pomoc zapisovatele, kdy se proces měření výrazně urychlí.

7 Bibliografické citace

ADÁMEK, Z., HELEŠIC, J., MARŠÁLEK, B., RULÍK, M., 2010. Aplikovaná hydrobiologie. 2. rozš. přep. vyd., FROV JU, Vodňany, 350 s.

ALTMANN, A. (1966). Přírodniny ve vyučování přírodopisu a biologii. Praha: Státní pedagogické nakladatelství.

BARUŠ, Vlastimil; OLIVA, Ota, a kol. *Mihulovci a ryby (1)*. 1. vyd. Praha: Academia, 1995, ISBN 80-200-0500-5.

BARUŠ, Vlastimil; OLIVA, Ota, a kol. *Mihulovci a ryby (2)*. 1. vyd. Praha: Academia, 1995, ISBN 80-200-0218-9

BRACHTL, M. Fixace biologických vzorků. Brno, 2012. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií. 2015-06-09

BUCHAR, J. (1993) Práce ze zoologie, 2nd ed.; Karolinum: Praha.257s

ČECH, S., M. SEDLÁČKOVÁ, D. HORKÝ, L. KREJČÍŘOVÁ a LAUSCHOVÁ. MASARYKOVA UNIVERZITA, LF. MedAtlas verze 2.1: Přehled chemických fixačních prostředků [online]. Brno, 2006 [cit. 2014-12-23]. Dostupné z: <http://www.med.muni.cz/histol/atlas.htm>

DUBSKÝ, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003: Obecné rybářství. Informatorium, Praha: 308 s.

FETTER, V.; PROKOPEC, M.; SUCHÝ, J.; TITLBACHOVÁ, S. (1967) – Antropologie, Academia.

Formaldehyd. Integrovaný registr znečišťování [online]. 2011 [cit. 2020-02-18]. Dostupné z: <http://irz.cz/node/43>

FOUZIA, A. & ABDESLEM, A. (2012). Environmental determinism of sex-ratio in the bleak, *Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758) (Cyprinidae) in Keddara dam, Algeria. *Indian Journal of Fisheries*, 59(4): 7 - 10.

Fox CH, Johnson FB, Whiting J, Roller PP. Formaldehyde fixation. *J Histochem Cytochem*. 1985 Aug;33(8):845-53.

FRIŠHONS, J., KRAJSA, J., KOČÍ, T., Zoologické preparáty pro výuku přírodovědy, přírodopisu a biologie [online]. 2017 Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/zoologicke-preparaty-pro-vyuku-prirodovedy-prirodo.pdf>

HABROVÁ, V. (1986) Biologická technika - Mikroskopické a histologické metody, Praha: 1st ed.; SPN:

<http://www.leicabiosystems.com/pathologyleaders/topics/histology-samplepreparation/>

HANEL, L.; LUSK, S. Ryby a mihule České republiky: rozšíření a ochrana. Vlašim: Český svaz ochránců přírody Vlašim, 2005. ISBN 80-86327-49-3.b

JÍROVEC, Otto. Zoologická technika. Vyd. 3. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1958, 314 s.

KOTTELAT, Maurice a Jörg FREYHOF. *Handbook of European freshwater fishes*. Cornol: Publications Kottelat, c2007. ISBN 978-2-8399-0298-4.

JUNQUEIRA, C.; CARNEIRO J.; KELLY, R. (1999) *Základy histologie*, 7th ed.; H&H: Jinočany. 502s.

KOTTELAT, Maurice a Jörg FREYHOF. *Handbook of European freshwater fishes*. Cornol: Publications Kottelat, c2007. ISBN 978-2-8399-0298-4.

LELLÁKOVÁ, F.; ČERN, Ž.; HABROVÁ, V.; CHVÁLA, M.; STOKLASA, J.; VOHRALÍK, V. (1985) *Zoologická technika*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 122s.

LUSK, S.; BARUŠ, V.; VOSTRADOVSKÝ, J. *Ryby v našich vodách*. Praha: Academia, 1983.

Lusk, S., VOSTRADOVSKÝ, J. & BARUŠ, V. (1992): *Ryby v našich vodách*. Vydání 2., doplněné. Praha: Academia, 1992. *Živou přírodou*. ISBN 80-200-0231-6.

MLČOCH, L., SLIMÁK, I. *Řízení kvality a strojírenská metrologie*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1987

MOUREK, J., LIŠKOVÁ, E. (2010). *Biologické sbírky – metody sběru, preparace a uchování*. Praha: UK v Praze Pedagogická fakulta

NEBESÁŘOVÁ, J. *Elektronová mikroskopie pro biology: Příprava preparátů pro TEM fyzikálními metodami* [online]. 2001 [cit. 2014-12-22]. Dostupné z: <http://www.paru.cas.cz/lem/book/index.html>

NEBESKÝ, V., BLÁHA, M. *Preparace celých ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2012. ISBN 978-80-87437-65-0

PAWLEY, J. B. *Handbook of biological confocal microscopy*. 3rd ed. New York, NY: Springer, c2006, xxviii, 985 p. ISBN 03-872-5921-X.

PELIKÁN, P., 1991, 1992. Preparace rybích trofejí. Rybářství (7/1991-4/1992) Preparační techniky. Česká společnost pitevních preparátorů [online]. 2010 Dostupné z: <http://www.csppos.cz/preparacni-techniky.html>

POLICAR, T., STEJSKAL, V., BLÁHA, M., ALAVI, S.M.H., KOUŘIL, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik (technologická řada), č. 89, VÚRH JU Vodňany, 51s.

ROHLF, F. J. & BOOKSTEIN, F. L. (1990), Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop, The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.

ROLLS, G. Leica Biosystems: Histology sample preparation. [online]. Wetzlar, Germany, 2012 [cit. 2014-12-22]. Dostupné z: <http://www.leicabiosystems.com/pathologyleaders/topics/histology-samplepreparation/>

SLICE, D. E. (2005), Modern Morphometrics in Physical Anthropology, Springer; 1 edition.
STLOUKAL, M.; DOBISÍKOVÁ, M.; KUŽELKA, V.; STRÁNSKÁ, P.; VELEMÍNSKÝ, P.; VYHNÁLEK, L.; ZVÁRA, K. (1999), Antropologie: Příručka pro studium kostry, Praha1, Václavské náměstí 68: Národní muzeum s podporou Grantové agentury České republiky

STEJSKAL, V., VEJSADA, P., CEPÁK, M., ŠPIČKA, J., VÁCHA, F., KOUŘIL, J., POLICAR, T., 2011. Sensory and textural attributes and fatty acid profiles of fillets of extensively and intensively farmed Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.). Food Chemistry 129, 1054–1059. 41

STEJSKAL, V., VEJSADA, P., VÁCHA, F., KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J., CEPÁK, M., 2008. Porovnání výtěrnosti a sensorických vlastností masa okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.) chovaného v intenzivním a extenzivním systému. Bulletin VÚRH Vodňany 44(2), 37-43. ISSN 0007- 389X.

SUNG, Hsing-Wen, Rong-Nan HUANG, Lynn L. H. HUANG, Chen-Chi TSAI a ChiTung CHIU. Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. Journal of Biomedical Materials Research. 1998, vol. 42, issue 4, s. 560-567. DOI: 10.1002/(sici)1097-4636(19981215)42:4<560::aid-jbm12>3.0.co;2-i.

ŠTEFCOVÁ, P. Preventivní ochrana sbírkových předmětů. Praha: Národní muzeum, 2000. ISBN 80-7036-114.

ŠVÁTORA, M., 1986. Okoun říční. Naše vojsko, n. p., Praha, 82 s

TÁBORSKÝ, K. (1961). Muzeiní práce Metodika zoologických prací v muzeích, díly 1, 2. Praha: Kabinet muzejní a vlastivědní práce při Národním muzeu v Praze.

VOSTRADOVSKÝ, J., 1971: Potrava štiky obecné (*Esox lucius* L.) v údolní nádrži Lipno. Práce VÚRH Vodňany, 1971 (9): 159-189

WATSON, L., 2008. The European market for perch (*Perca fluviatilis*). In: Fontaine, P., KESTEMONT, P., TELETCHÉA, F., WANG, N., (eds.): Percid Fish Culture - From Research to Production. Proceeding of abstracts and short communications of the workshop, Namur, Belgium, 10- 14. ISBN: 978-2-87037-582-2.

ZAPLETAL, T., MAREŠ, J., HADAŠOVÁ, L., 2013. The food of perch (*Perca fluviatilis* L.) in a biomanipulated water supply reservoir. In: ŠKARPA, P., RYANT, P., CERKAL, R., POLÁK, O., KOVÁRNÍK, J., (eds.): MendelNet 2013 - Proceedings of International PhD Students Conference, Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University, Brno, 793-797. ISBN 978-80-7375-908-7.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, D. H.; FINK, W. L. (2004), Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer, Academic Press; 1 edition.

8 Seznam tabulek

Tabulka 1 Seznam konzervačních roztoků a druhů ryb	25
Tabulka 2 Druh fixačních roztoků	29
Tabulka 3 Data měření	31
Tabulka 4 Seznam měřených částí ryb.....	32
Tabulka 5 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	33
Tabulka 6 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	34
Tabulka 7 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	34
Tabulka 8 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	35
Tabulka 9 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	35
Tabulka 10 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	36
Tabulka 11 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů	36
Tabulka 12 Tabulka s naměřenými průměrnými hodnotami morfometrických parametrů u osmého měření	37
Tabulka 13 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací mrazem (M).....	41
Tabulka 14 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s kohoutkovou vodou (A)	41
Tabulka 15 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s destilovanou vodou (B)	42
Tabulka 16 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací ethanolem s mořskou vodou (C)	42
Tabulka 17 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s kohoutkovou vodou (D)	43
Tabulka 18 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s destilovanou vodou (E)	43
Tabulka 19 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací formalin s mořskou vodou (F).....	44
Tabulka 20 Tabulka s průměrnými hodnotami určitých morfometrických parametrů konzervací destilovanou vodou (W).....	44
Tabulka 21 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u ježdíka obecného (<i>Gymnocephalus cernuus</i>) ze skupiny M.....	45
Tabulka 22 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u okouna říčního (<i>Perca fluviatilis</i>) ze skupiny B.....	45
Tabulka 23 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u oukleje obecné (<i>Alburnus alburnus</i>) ze skupiny F	45
Tabulka 24 Tabulka s určitými morfometrickými parametry v procentuálním zastoupení u cejna velkého (<i>Abramis brama</i>) ze skupiny C	46

9 Seznam obrázků

Obrázek 1 Strukturní vzorec glutaraldehydu.....	15
Obrázek 2 Strukturní vzorec formaldehydu	16
Obrázek 3 Strukturní vzorec ethanolu.....	17
Obrázek 4 Strukturní vzorec chloridu rtuťnatý.....	17
Obrázek 5 Strukturní vzorec kyseliny octové.....	17
Obrázek 6 Strukturní vzorec kyseliny pikrové	18
Obrázek 7 Oxid osmičelý	18
Obrázek 8 Strukturní vzorec genipinu	20
Obrázek 9 Laboratorní digitální váha (Mettler Toledo +- 0,01 g).....	28
Obrázek 10 Digitální posuvné měřítko (Powerfix caliper)	28
Obrázek 11 Plastické znaky ryb.....	32

10 Seznam grafů

Graf 1 Kategorizované krabicové grafy parametru DPD2 v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační čidla.....	38
Graf 2 Kategorizované krabicové grafy parametru LT v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační čidla.....	38
Graf 3 Kategorizované krabicové grafy parametru LS v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační čidla.....	39
Graf 4 Kategorizované krabicové grafy parametru DV-A v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační čidla.....	39
Graf 5 Kategorizované krabicové grafy parametru DPD v rozdělení na jednotlivá měření a konzervační čidla.....	40