

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: Jan Votrubec

Studijní program: 4101 T Zemědělské inženýrství

Studijní obor: všeobecné zemědělství

Název tématu: Vliv hmotnosti ryb, expozice a teploty na citlivost kapra obecného k anestetiku hřebíčkový olej

Zásady pro vypracování:  
(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je stanovení vlivu hmotnosti (od hmotnosti několika mg po několik kg), délky expozice (od 2 do 20 min.) a teploty prostředí (10–25 °C) na působení anestetika hřebíčkový olej (nástup jednotlivých fází anestézie a jejich odeznívání, včetně rozdílů v jejich průběhu). Metodický postup spočívá v provádění pokusů u 4 hmotnostních kategorií, 4 délkách expozice a 4 teplotách (ve výše uvedených rozpětích) a 5 různých koncentracích anestetika, vždy postupně s 10 jedinci ryb (po jejich předchozí teplotní adaptaci). Přitom bude sledován a vyhodnocován čas nástupu jednotlivých fází anestézie a jejího odeznívání, včetně odchylek od obvyklého chování. Výsledkem práce bude doporučení vhodných kombinací koncentrace anestetika a délky jeho působení pro různé velikostní kategorie a teploty prostředí u kapra. Pokusy budou prováděny v experimentální hale VÚRH JU ve Vodňanech v rámci řešení výzkumného záměru Biologické základy sladkovodní akvakultury (MSM 126100001).

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: „Vliv hmotnosti ryb, expozice a teploty na citlivost kapra obecného k anestetiku hřebíčkový olej,, vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

V Českých Budějovicích, 20.dubna 2006

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized initial 'K' followed by a long horizontal line extending to the right.

Poděkování

Touto cestou bych chtěl poděkovat svému vedoucímu diplomové práce doc.Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Zdeňkovi Stupkovi za vedení, pomoc, odborné rady a připomínky, které mi poskytovali během vypracování celé práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Aleně Novákové za pomoc se zpracováním statistických výsledků a pracovníkům VÚRH Vodňany - oddělení akvakultury a hydrobiologie za materiální zabezpečení výzkumu a odbornou pomoc.

České Budějovice, duben 2006

# Obsah

1. Úvod .....	2
2. Literární přehled .....	4
2.1. Použití a účinky anestetik.....	4
2.2. Vstup anestetik.....	6
2.3. Fáze anestézie.....	7
2.4. Ideální anestetikum.....	10
2.5. Charakteristika testovaného anestetika.....	12
3. Popis a charakteristika testovaného druhu ryby (kapr obecný).....	18
4. Materiál a metodika.....	20
4.1. Materiál.....	20
4.2. Příprava anestetické lázně.....	21
4.3. Metodika vlastního experimentu .....	21
4.4. Metodika vyhodnocení .....	23
5. Výsledky .....	24
6. Diskuse .....	35
6.1. Anestezie hřebíčkovým olejem.....	35
6.2. Hřebíčkový olej a jeho toxicita.....	37
6.3. Posouzení vlastností hřebíčkového oleje.....	39
6.4. Zhodnocení vlastních výsledků u kapra obecného.....	40
6.4.1. Nástup anestezie.....	40
6.4.2. Odeznívání.....	41
7. Závěr.....	43
8. Seznam literatury	
9. Přílohy	

# 1. ÚVOD

Rybářství je významnou součástí akvakultury, tj. cílevědomé produkce rostlinných a živočišných organismů ve vodním prostředí. Česká republika patří mezi významné producenty sladkovodních ryb v Evropském regionu a proto i zde dochází k převratným technologickým změnám, jako je umělý výtěr, genetický výzkum a zavedení používání anestetik do provozního rybářství.

Anestetika jsou fyzikální nebo chemické látky navozující nejprve zklidnění organismu, později ztrátu rovnováhy, pohyblivosti, vědomí a účinných reflexů v organismu vystavenému vyšším koncentracím anestetika nebo při expozici ryby těmto chemickým látkám po delší časové intervaly (Keene a kol., 1998). Anestetika se používají při manipulaci a zákrocích na rybách při šlechtitelské práci, umělé reprodukci, odběrech krve, veterinárních zákrocích apod. Především s rozvojem umělého výtěru ryb vzrostla potřeba anestetik, zároveň narůstají i požadavky na používané chemikálie jak s ohledem na zdraví ryb tak i zdravotní bezpečnost pro pracovníky. Dalším důvodem je usnadnění manipulace zejména s velkými nebo příliš pohyblivými druhy ryb. Výsledkem anestézie je dočasná ztráta citlivosti k bolesti, nervových reflexů i zmenšení napětí svalů, díky tomu i usnadněná manipulace s rybami (Trzebiatowski a kol., 1996). Anestézie je především součástí prevence manipulačního stresu. Intenzita mechanického poškození může být různá, od poranění slizové vrstvy až po hluboké rány ve svalovině a poškození ploutví či žáber. Přestože u ryb existuje velká regenerační schopnost, nelze působení mechanických vlivů podceňovat (Svoboda a Kolářová, 1990).

Jedním z významných požadavků ochrany zdraví ryb z hlediska zdravotního stavu i podle požadavků Zákona na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb., v platném znění) je zabránit nešetrné manipulaci a následnému mechanickému poškození ryb. Na nově uváděné chemické látky a přípravky v akvakultuře a rybářství jsou kladeny přísné požadavky a proto jsou tyto látky podrobovány přísné kontrole, obzvláště vzhledem k jejich bezpečnosti použití a účinnosti. Moderní přípravky pro anestézii ryb musí splňovat řadu všeobecných požadavků, například musí být dobře rozpustné ve vodě, mít krátký indukční čas, nemít toxické účinky na ryby a člověka, splňovat faktor bezpečnosti, dle potřeb umožnit zesílení anestézie s možností samovolného zotavení a nesmí zanechávat v organismu žádná rezidua (Velíšek a kol., 2004). Anestetikum hřebíčkový olej je tradičně používán v lidské medicíně jako lokální anestetikum, ale jeho využití v akvakultuře je relativně nové.

Tato práce navazuje na dlouholetý laboratorní výzkum, zaměřený na řešení problematiky vlivu účinku anestetik na ryby různých druhů, pohlaví a stáří, který je součástí

výzkumných prací ve VÚRH JU Vodňany. Dosažené výsledky umožní doporučit vhodné koncentrace anestetika hřebíčkového oleje u kapra obecného při různých teplotách, koncentracích a velikostech ryb .

Cílem této diplomové práce je stanovení účinku hřebíčkového oleje, dnes nejběžněji používaného anestetika v rybářství, pro dosažení jednotlivých stupňů anestézie (při 10 minutové expozici v roztoku anestetika) a jejího odeznívání, po přelovení do čisté vody v závislosti na použité koncentraci anestetika a teplotě prostředí po předchozí adaptaci, a to u kapra obecného při několika velikostních kategoriích.

## 2. Literární přehled

### 2.1. Použití a účinky anestetik

Anestetika jsou fyzikálně a chemicky působící látky, vyvolávající nejprve efekt uklidnění, poté po vystavení vyšším koncentracím nebo vystavení po delší časový úsek, ztrátu rovnováhy, pohyblivosti, vědomí a reflexů organismu (Summerfelt a Smith, 1990). Anestetika jsou široce používána při transportu a přechovávání ryb (Muench, 1958, Tytler a Hawkins, 1981; Summerfelt a Smith 1990). Manipulace s vodními živočichy v jejich přirozeném prostředí i mimo něj má téměř vždy za následek zvýšení jejich tělesné aktivity. Charakteristická je velká pohyblivost ryb během výlovu a transportu. Manipulace s rybami působí na jejich fyziologii a chování, je tedy nezbytné ryby i před velmi jednoduchým úkonem imobilizovat (Iversen a kol., 2003; Keene a kol., 1998). Aby se zabránilo mechanickému poranění, doporučuje se před vlastní manipulací provést znehybnění ryb pomocí anestetik (Čítek a kol., 1997). Důležitá je zejména snaha zabránit nešetrné manipulaci a následnému mechanickému poškození ryb. Intenzita mechanického poškození může být různá, od poranění slizové vrstvy až po hluboké rány ve svalovině a poškození ploutví či žáber. Přestože u ryb existuje velká regenerační schopnost, nelze působení mechanických vlivů podceňovat. V neposlední řadě je práce s anestetizovanými rybami pro personál snazší a rychlejší (Svoboda a Kolářová, 1999). Při přepravě ryb snižují anestetika reakci ryb na vnější podněty a oslabují metabolické procesy, a to má za následek pokles spotřeby kyslíku a menší hromadění konečných produktů metabolismu. Použitím anestetik při přepravě je tedy umožněno nejen snazší udržení požadovaných chemických parametrů vody v transportních nádobách, ale i možnost zvýšení množství přepravovaných ryb (zvýšení kapacity transportních nádrží) (Svoboda a Kolářová, 1999).

Podle přehledu zpracovaného Svobodou a Kolářovou (1999) byla k anestézii ryb postupem doby používána celá řada různých látek. Nejprve byly využívány látky ovlivňující nervovou činnost člověka, např. etylalkohol. Ten však nemá na ryby dostatečný účinek. Testován byl rovněž éter, jeho nevýhodou je vysoká těkavost a zvýšené nároky na bezpečnost práce (snadnou zápalnost a přímý účinek par). Z podobných důvodů bylo upuštěno od používání uretanu, chlorbutanolu, trichlormetanolu, které mají nepříznivé účinky na zdraví člověka, včetně karcinogenních účinků, z důvodu náročnosti na technické zařízení není používána ani elektronarkóza. Rychlý světový růst průmyslové výroby ryb a technologické

pokroky v akvakultuře kladou přísné požadavky na nově uváděné chemikálie a přípravky. Chemikálie používané v akvakultuře jsou nyní podrobovány přísné kontrole, především vzhledem k jejich bezpečnosti použití a účinnosti (Velíšek a kol., 2004).

Ačkoliv celá řada chemikálií byla shledána pro vyvolání anestézie u ryb jako efektivní (McFarland, 1960; Bell, 1964; Klontz, 1964), jen několik z nich se široce používá v akvakultuře (Marking a Meyer, 1985). Marking a Meyer (1985) uvedli srovnávací studie účinnosti chemikálií využitelných pro znecitlivění ryb. Mnoho problémů se týká nedostatků v registraci s ohledem na potravinovou bezpečnost. Všeobecným požadavkem je, aby látky užívané k anestézii ryb, byly z těl anestetizovaných ryb před jejich zabitím a konzumací nejprve vyloučeny, nebo přeměněny na residua, jež jsou klasifikována jako bezpečná.

Ross a Ross (1999) zjistili, že druhy ryb s vysokým obsahem tuku nebo velké dospělé ryby, mohou v sobě vázat anestetika rozpustná v tucích ještě dlouhou dobu po zotavení. K tomuto jevu nedochází při krátkodobém působení anestetika, ale při jeho dlouhodobém působení. Selže-li rybě přirozené dýchání, může dojít k poškození srdečního reflexu ovlivňovaného protékáním vody. Zmenšení průtoku vody ústní dutinou je důvodem zeslabení srdečního tepu.

Používání anestetik se stává běžnou součástí chovatelské praxe v rybářství. V posledních desetiletích došlo k převratným technologickým změnám v chovu ryb. Chemikálie používané v akvakultuře a stejně tak i anestetika jsou nyní podrobovány přísnému posuzování, nejen z hlediska jejich ceny, ale zejména s ohledem na bezpečnost použití a jejich účinnost (Taylor a Roberts, 1999). Řada anestetik se běžně využívá v rámci chovatelských postupů v akvakultuře, ale také u rybářů nebo ichtyologů během sledování a experimentů v terénu, kde se anestetika uplatňují při výlovu ryb pro potřeby experimentální a také při periodických pozorováních, měření a klasifikaci, či v laboratořích ke znehybnění ryb při veterinárních zákrocích (Munday a Wilson, 1997).

Soto a Burhanuddin (1995) udávají, že anestetika se používají při manipulaci a zákrocích na rybách při šlechtitelské práci, umělé reprodukci, odběrech krve a bioptických vzorků gonád, transportu ryb apod.. Svoboda a Kolářová (1999) připomínají, že rovněž při značkování nebo při veterinárních zákrocích (aplikace hormonálních přípravků, léčiv, odběr krve, mechanické odstraňování parazitů atd.) je častou překážkou velká pohyblivost ryb, která může mít za následek poranění a následnou infekci. Anestézie redukuje rovněž výskyt krvácení a šoku při operačních výkonech (Kaplan, 1969). Dalším důvodem je usnadnění manipulace zejména s velkými a příliš pohyblivými druhy ryb (Trzebiatowski a kol. 1996). Použitím anestetik se redukuje nežádoucí působení nadměrného stresu souvisejícího s



manipulací ryb, který má vliv i na jejich kondici (Kazuň a kol. 1999). Svoboda a Kolářová (1999) uvádějí, že anestézie není pouze součástí prevence mechanického poškození, ale je především součástí prevence manipulačního stresu. V první fázi odpovědi organismu na působení manipulačního stresu se objevují endokrinní změny (primární reakce). Ty se dále uplatňují při řízení organismu a způsobují metabolické, osmotické a další změny (sekundární reakce), které vedou ke snížení nescifické odolnosti a následně ke zhoršení zdravotního stavu ryb. Především reprodukce představuje v životním cyklu všech druhů ryb období, ve kterém dochází k vysokému zatížení organismu a v mnoha aspektech charakteru stresu s následnými negativními účinky. Anestetika spolehlivě blokují nebo omezují aktivitu osy hypothalamus-hypofýza-nadledvinka (HPI), která má souvislost s manipulačním stresem. Navozená aktivita HPI osy a s tím související snížení odolnosti vůči stresu má za následek uvolnění plazmového kortizolu, který způsobuje různou fyziologickou odpověď organismu, jejímž úkolem je napomáhat rybě překonat nebo se vyrovnat se stresem (Small, 2003). Schopnosti kortizolu potlačit imunologickou funkci organismu se věnovali Iversen a kol. (2003). Stres může negativně ovlivnit chované ryby, jeho účinky snižují schopnost normální imunitní odpovědi, zvyšují vnímavost k chorobám, snižují kvalitu jiker a spermií a mají vliv také na snížení váhového přírůstku (Wagner a kol., 2002).

Ross a Ross (1999) udávají, že dávka chemikálie a čas působení může narůstat, určující je konečná fáze působení anestetika. Proto vhodná dávka chemikálie může zpočátku vést k hlubší anestézii, popřípadě až zastavit dýchací pohyby.

## 2.2. Vstup anestetik

Literární zdroje uvádí, že hlavní způsob vstupu a vyloučení anestetika do a z těla ryby je skrze žábry (Hunn a Allen 1974; Houston a Woods 1976). Tato nejpoužívanější technika vychází z aplikace anestetizující chemikálie do vodného roztoku. Ta je vdechována rybami a prudce vniká do okysličené krve, odkud je velice rychle transportována do CNS. Je zde analogie s plynými anestetiky pro suchozemské obratlovce. Po navrácení do čisté vody jsou chemikálie nebo jejich metabolity mnohem rychleji vyměšovány přes žábry a v menším rozsahu kůží (Ferreira, 1984). Rychlost přechodu přes žábry záleží značnou měrou na stupni ionizace anestetika a jeho rozpustnosti v tucích. Ačkoliv žábry jsou považovány za hlavní místo vstupu chemikálií do organismu, existují i další způsoby. Brown a kol. (1972) zjistili při

práci s elektrickými úhoři, že ačkoliv anestetikum quinaldine (chinaldin) rychle vstupuje do ryby přes žábry, absorpce kůží byla mnohem vyšší. Pokusy zaměřené na určení absorpce anestetika u ryb prokázaly, že anestetikum vstupuje do organismu dýchacími orgány a částečně perkutánně. Gilbert a Wood (1957) popisují postupy, při kterých používají spreje nebo rozprašovače k aplikaci roztoků anestetik přímo na žabra velkých ryb. Důvodem je skutečnost, že ponoření velkých ryb pod hladinu roztoku anestetika je velmi nepraktické. Ross a Ross (1999) udávají, že nejpoužívanější technika aplikace anestetika je ve formě krátkodobé expozice ryb ve vodném roztoku anestetika. Po navrácení do čisté vody jsou anestetika, nebo jejich metabolity, mnohem rychleji vyměšovány přes žábry a jen v podstatně menším rozsahu i kůží. Některé látky mohou být vyměšovány ledvinami. Hlavní faktory, které mohou mít vliv u ryb jsou teplota, koncentrace rozpuštěného kyslíku, hladina amoniaku, nahromadění výkalů a jiných látek v nádobě, ve které probíhá anestézie. Jednoduché procedury se vyznačují ponořením ryby do roztoku o vhodné koncentraci, kde bude příslušná chemikálie samovolně vdechována. Nejjednodušší metodou je namíchání roztoku anestetika o vhodné koncentraci v dobře prokysličené vodě. Vyvolání anestézie může být rychlé, úspora času bude maximální a ryby budou po anestézii přeneseny do dobře prokysličené čisté vody během několika minut. Podle délky setrvání v roztoku anestetika mohou být ryby přivedeny do povrchního nebo hlubokého stádia anestézie. Ross a Ross (1999) uvádějí, že u obrácených anesteziovaných ryb se zvyšuje průtok vody ústní dutinou, čímž se urychluje a reguluje srdeční rytmus. To zvyšuje množství krve protékající žabrami a ryba mnohem rychleji odbourává anestetikum z těla. Po přelovení ryby toho můžeme dosáhnout, pokud budeme rybou pohybovat dopředu a dozadu v zotavovací lázni, nebo jednoduše pomocí úzké hadice vedené skrz žaberní dutinu. Jedno zotavení stačí k tomu, aby ryba začala samovolně dýchat. Během této fáze může být dýchání často velmi hluboké se silnými regulovanými pohyby skřelí.

### **2.3. Fáze anestézie**

Různí autoři člení nástup a průběh anestézie do několika fází (zpravidla 4 – 6) a charakterizují jednotlivé fáze anestézie a rovněž fáze odeznívání anestézie. V tabulce 1. je uvedeno rozdělení a charakteristiky fází podle polských autorů Trzebiatowského a kol. (1996)

a Kazuňa a kol. (1999), následuje členění fází podle Krále a Svobodová (1990), Svobody a Kolářové (1999) a Keene a kol. (1998).

Tab. 1.: Charakteristiky fází anestézie a odeznívání u ryb (podle Trzebiatowského a kol. 1996; Kazuňa a kol. 1999)

	Fáze	Charakteristika
Anestézie	0 – Klidu	Fyziologická poloha. Normální pohybová aktivita. Ryby spokojeně plavou, vyhýbají se bez námahy překážkám a pravidelně dýchají.
	I – Vzrušení (vydráždění)	Fyziologická poloha. Zvýšená změna místa, aktivita, neklid, rychlé plavání, nevyhýbají se překážkám při plavání, vykazují velice silné obranné reflexi, nepravidelné dýchací pohyby, u některých druhů mělké dýchací pohyby nebo naopak výrazné, silně roztažená žábra.
	II a – Celkové povrchní znečitlivění	Snížená aktivita, pomalé naklánění se na bok, oslabené nebo žádné obranné reflexi, dýchací pohyby jsou zpomalené, pravidelné, intenzivní a hluboké.
	II b – Celkové úplné znečitlivění	Boční poloha, ztráta pohyblivosti, nevykazují žádné obranné reflexi, kromě reflexu akustiky. Dýchací pohyby jsou pravidelné, hluboké a zpomalují se.
	III – Zástava dýchání	Boční postavení, dýchací pohyby zastavené nebo jen povrchní (mělké) až zanikající, bez obranných reflexů (včetně akustického).
Odeznívání	II b	Boční poloha, akustický reflex, pravidelné dýchání.
	II a	Změna z boční polohy do fyziologické polohy, nekoordinované pohyby, pravidelné dýchání.
	I	Fyziologická poloha, zahájení pomalého plavání, nekoordinované pohyby, nevyhýbá se překážkám (naráží do nich) při plavání.
	0	Fyziologická poloha, normální pohybová aktivita, normální plavání, vyhýbání se překážkám při plavání.

Svoboda a Kolářová (1999) popsali čtyři následující fáze změn ve fyziologickém stavu:

- a) zrychlení dýchacích pohybů a jejich následné zpomalení, částečný útlum reakcí na zevní podněty
- b) ztráta rovnováhy, dýchací pohyby velmi pomalé, na silný podnět ryby ještě reagují
- c) úplná ztráta reflexů, ryby leží na dně nádrže, dýchají nepravidelně, na manipulaci nereagují
- d) úplné zastavení dýchacích pohybů

Všechny fáze na sebe plynule navazují.

Jiné způsoby označování jednotlivých fází anestézie a jejich odeznívání volí Keene a kol. (1998). Popisují šest fází anestézie u ryb:

- a) Fáze 0 – normální chování – Působení na podněty, normální dýchací rychlost i zbarvení svalů
- b) Fáze 1 - lehké uklidnění - nepatrná ztráta reakce na vnější vizuální a taktilní podněty, aktivita skřelí mírně snižena, rovnováha normální
- c) Fáze 2 – hluboké uklidnění - úplná ztráta reakce na vnější podněty kromě silného tlaku, nepatrné snížení aktivity skřelí, rovnováha normální
- d) Fáze 3 – Částečná ztráta rovnováhy - částečná ztráta svalového napětí, plavání nestálé, zvýšená aktivita skřelí, reakce jen na silné taktilní a vibrační podněty
- e) Fáze 4 – Úplná ztráta rovnováhy - úplná ztráta svalového napětí a rovnováhy, pomalá ale pravidelná aktivita skřelí, ztráta spinálních reflexů
- f) Fáze 5 – Ztráta reflexní reakce - úplná ztráta reakce, pohyby skřelí pomalé a nepravidelné, srdeční rytmus pomalý, ztráta všech reflexů
- g) Fáze 6 – Medulární kolaps - zastavení skřelové aktivity, následuje rychlá srdeční zástava

Zotavení z anestézie probíhá v opačném pořadí, přechody mezi fázemi jsou méně výrazné, fáze se prolínají (Keene a kol., 1998):

- a) Fáze 1 – obnovení skřelové aktivity
- b) Fáze 2 – částečné získání rovnováhy s částečným zpětným nabytím pohyblivosti
- c) Fáze 3 – úplná obnova rovnováhy
- d) Fáze 4 – získání schopnosti plavat a reagovat na externí podněty, ale behaviorální odezva je ještě pasivní
- e) Fáze 5 – celková behaviorální regenerace, normální plavání

Král a Svobodová (1990) uvádí některé charakteristiky stejné jako v tabulce 1., v jiných se liší. Svá pozorování prováděli u kaprovitých a lososovitých ryb, vystavených účinné látce. Charakterizovali následující čtyři fáze změn ve fyziologickém stavu.

1. zrychlení dýchacích pohybů a jejich následné zpomalení, částečný útlum reakcí na zevní podněty, ryby se drží ve fyziologické poloze (hřbetem vzhůru)
2. ztráta rovnováhy, ryby mají nekoordinované pohyby, většinou jsou na boku nebo hlavou vzhůru, na silný podnět reagují
3. úplná ztráta reflexů, ryby leží na dně, dýchají nepravidelně při manipulaci nereagují

4. úplné zastavení dýchacích pohybů, v této fázi nelze vizuálně odlišit ryby anestézované od uhynulých

Všechny uvedené fáze na sebe plynule navazují. Zotavení probíhá v opačném pořadí a přechod mezi jednotlivými fázemi je ale méně výrazný (fáze se prolínají). U generačních štik probíhá anestézie ve stejných fázích jako u kaprovitých a lososovitých ryb. Rozdíl je ale v tom, že u těchto ryb není v průběhu anestézie pozorovaná ztráta rovnováhy, štiky po celou dobu zůstávají ve fyziologické poloze (tj. hřbetem vzhůru).

## 2.4. Ideální anestetikum

Anestetika patří mezi důležitá a všestranně používaná veterinární léčiva. Moderní anestetika pro ryby musí splňovat množství všeobecných požadavků, například musí být dobře rozpustná ve vodě, mít krátký indukční čas, být netoxická pro ryby a člověka, mít velký faktor bezpečnosti, dle potřeb umožnit zesílení anestézie s možností samovolného zotavení a nesmí zanechávat v rybách žádná rezidua (Velíšek a kol., 2004).

Seznam hlavních požadavků vlastností, kterým by mělo dostat ideální anestetikum, vytvořili Marking a Meyers (1985):

1. Indukční čas je kratší než 15 min., lépe méně než 3 min.
2. Doba zotavení po použití anestetika je krátká, 5 min. nebo méně
3. Není toxický k rybám a má veliký bezpečnostní faktor
4. Je snadno použitelné a není škodlivé vůči lidskému organismu během běžného používání
5. Nemá žádné trvalé účinky na fyziologický stav a chování ryb
6. Rychle se vylučuje nebo metabolizuje, nezůstávají zbytky (rezidua) a nevyžaduje ochrannou lhůtu
7. Nevytváří žádné kumulativní efekty ani nevznikají problémy při opětovných expozicích
8. Má ekonomicky přijatelnou cenu

Dále připouštějí, že neexistuje pravděpodobně žádná látka, která by důsledně naplňovala současně všechny jejich uvedené parametry: účinnost, dostupnost, bezpečnost, příznivý ekonomický faktor, snadnost použití a minimální rezidua ve tkáních.

Požadované vlastnosti anestetik se mění s novými výzkumy. Ve většině případů je ovšem žádoucí rychlá indukce narkózy, v rozmezí od 3 do 15 min. Kritéria pro zotavení z anestézie jsou naopak variabilní, delší doba regenerace je žádoucí při výlovu ryb z přirozeného prostředí nebo při experimentech, u nichž se předpokládá dlouhodobější manipulace s rybami. O dva roky později definovali tři základní kritéria pro anestetika Guilderhus a Marking (1987). První, sedace musí být vyvolána za 3 min. nebo dříve. Druhé, odeznění (návrat k normálnímu plavání) by mělo nastat do 15 min. po ukončení expozice v anestetiku, ne ale dříve než za 10 min. Třetí, nesmí se projevovat mortalita po 15 min. expozici v anestetiku. Ze 17 testovaných anestetik, jen 5 splnilo tato kritéria. Byly mezi nimi MS-222 (3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulphonate), quinaldin sulphate (2-methyl-quinoline sulphate), benzocaine (p-aminobenzoic acid ethyl ester), metomidate (1-(1-phenylethyl)-1H-imidazole-5-carboxylic acid methyl ester) a 2-phenoxyethanol.

V jiných případech je očekáváno rychlé a kompletní zotavení. Také velmi důležitým hlediskem je behaviorální reakce ryb na anestézii. Zpravidla jsou vyžadovány rychlá a klidná indukce i zotavení z narkózy. Kromě vytvoření očekávaných fyziologických a behaviorálních reakcí by narkotické chemické látky měly být bezpečné pro savce, snadno použitelné a neměly by zvyšovat stupeň mortality testovaného zvířete (Munday a Wilson, 1997).

Jako první vyhovoval požadavkům na moderní narkotikum pro poikilotermní obratlovce přípravek známý pod jménem Sandoz MS 222 švýcarské firmy SANDOZ. Jeho vlastnosti lze vyjádřit takto: vysoká rozpustnost, rychlý účinek, neškodnost pro rybu a pracovníka, široké meze bezpečnosti a libovolné stupňování anestézie s možností samovolného zotavení (Keene a kol., 1998; Svoboda a Kolářová, 1999). Za bezpečné pro konzumní ryby jsou považována dvě anestetika: tricain methansulfonát MS-222 a oxid uhličitý CO<sub>2</sub>. Sloučenina MS-222 je účinným anestetikem z hlediska rychlé indukce do anestézie a následně rychlého odeznívání, ale jeho použití v rybářském průmyslu je limitováno (Woody a kol., 2002). MS-222 je považován za karcinogenní látku a vyžaduje ochrannou lhůtu pro spotřebitele v délce minimálně 21 dnů před zpracováním pro potravinářské účely, používání tohoto anestetika je, vzhledem k jeho ceně, také poměrně ekonomicky nákladné (Pirhonen a Schreck, 2003). CO<sub>2</sub> používaný k anestézii je považován mnoha vědci za jen zčásti úspěšné anestetikum (Woody a kol., 2002).

## 2.5. Charakteristika testovaného anestetika

### Hřebíčkový olej

Jedním z nadějných a relativně nových anestetik, které by se dalo použít u ryb určených pro potravinářské zpracování a mělo by krátkou dobu odeznívání je hřebíčkový olej (Woody a kol., 2002; Pirhonen a Schreck, 2003). Jako účinné anestetikum pro použití v akvakultuře byl objeven teprve nedávno, ačkoliv je už po staletí tradičně používán lidmi v Indonésii jako lokální anestetikum při bolestech zubů, hlavy a kloubů (Soto a Burhanuddin, 1995). Ross a Ross (1999) a Taylor a Roberts (1999) uvádějí, že je používán jako slabé anestetikum již od starověku a že jeho účinnost jako anestetika je i v zubním lékařství dobře známá. O jeho využití v humánní medicíně se zmiňují rovněž Nagababu a Laksmiak (1992). Hřebíčkový olej se shoduje v sedmi z osmi kritérií použití definovaného ideálního anestetika (Marking a Meyer 1985).

Woody a kol. (2002); Pirhonen a Schreck (2003) a Soto a Burhanuddin (1995) uvádějí, že hřebíčkový olej je tmavě hnědá, viskózní kapalina získaná destilací květů, stonků a listů hřebíčkovce (*Eugenia aromatica*). Na rozdíl od toho jiní autoři prezentují, že hřebíčkový olej pochází ze stonků, listů a květních pupat stromu *Eugenia caryophyllata*, jeho aktivní složkou je eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol), který tvoří 70-90 % obsahu hřebíčkového oleje (Wagner a kol., 2002; Kildea a kol., 2004; Keene a kol., 1998; Griffiths, 2000), ačkoliv někteří autoři uvádějí, že toto číslo může dosahovat hodnoty až 95 % (Iversen a kol., 2003; Woody a kol., 2002; Grush a kol., 2004). Podle Hernani a Tangendaji (1988) se hřebíčkový olej sestává primárně z následujících složek: fenyleugenol (70 - 90%), acetyeugenol (> 17%) a karyofylen (12%). Olej se také skládá z velmi široké řady terpentýnových sloučenin, které mu poskytují typickou vůni a chuť (Ross a Ross, 1999).

Eugenol je velmi všestranná chemická sloučenina, jejíž vlastnosti jsou zužitkovány v celé řadě různorodých aplikací: jako koření v potravinářství (Iversen a kol., 2003), jako antioxidant (Kramer, 1985; Nagababu a Lakshmaiah, 1992; Pulla Reddy a Lokesh, 1992; Rajakumar a Rao, 1993), jako antimykotikum (Hussain a kol., 2000), jako fungicid a antibakteriální agens (Griffiths, 2000; Keene a kol., 1998; Karapmar a Aktug, 1987; Moleyar a Narasimham, 1992), jako přísada v cigaretách kretek (La Voie a kol., 1986; Guidotti, 1989) a ve stomatologii jako analgetikum a lokální narkotikum (Keene a kol., 1998). Většina autorů

jej po zhodnocení prohlásila za bezpečné a účinné anestetikum. Hřebíčkový olej je uveden na seznamu US FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léků USA) jako látka, kterou lze všeobecně považovat za bezpečnou a nemutagení, pokud hladina hřebíčkového oleje ve všech druzích jídla nepřesáhne 1500 ppm. Výbor OSN pro výživu a zemědělství a odborný výbor WHO pro potravinářská aditiva ustanovila pro člověka akceptovatelný denní příjem eugenolu 2,5 mg na kilogram tělesné hmotnosti (Kildea a kol., 2004).

Je mnoho příkladů použití hřebíčkového oleje jako anestetika teplokrevných zvířat a ryb Endo a kol. (1972). Vhodné narkotické účinky eugenolu mají největší význam při anestézii ryb, hřebíčkový olej je relativně levné, dostupné a z hlediska škodlivých vlivů na rybu a okolní prostředí bezpečné anestetikum. Může být použito v nižších koncentracích než je tomu u jiných anestetik, jako například MS-222 a u ryb není vyžadována po expozici této chemické látky žádná ochranná lhůta (Griffiths, 2000), je však citlivý na světlo (Pirhonen a Schreck, 2003; Cho a Heath, 2000).

Soto a Burhanuddin (1995) v laboratorním experimentu poprvé demonstrovali možnost využití hřebíčkového oleje jako anestetika při transportu chiméry hlavaté (*Siganus lineatus*). Koncentrace 10 mg.l<sup>-1</sup> způsobila u ryb po dobu 12 hod převážně ztrátu jejich rovnováhy, zatímco koncentrace 15 mg.l<sup>-1</sup> způsobila, předtím než došlo k uhynutí ryb, úplnou ztrátu vědomí po dobu 20 hod. Obecně doporučená koncentrace hřebíčkového oleje jako koncentrace navozující efektivní a bezpečnou anestézii je 30 mg.l<sup>-1</sup> (Svoboda a Kolářová, 1999; Prince a Powell, 2000). Hřebíčkový olej je účinný jako anestetikum u testovaných ryb. Následný průběh různých fází anestézie se vzrůstající dávkou a časem a zotavení z anestézie všech ryb ho zařazuje mezi typické vzory rybích anestetik (McFarland 1959; Jolla a kol. 1972; Hikasa a kol. 1986). Existuje představa, že se může hřebíčkový olej považovat jako přesné anestetikum k protichůdně působícímu utišujícímu léku (= sedativu), narkoanestetiku, svalovému uvolňovači nebo paralytické droze (Butterworth a Company 1978; Warren 1983; Nih, 1985). Analgetické efekty hřebíčkového oleje vyplývají ze zabránění syntézy prostaglandinů H (PHS) eugenolem (Dewhirst a Goodsom 1974; Thomson a Eling 1989).

Keene a kol. (1998) studovali anestetické efekty eugenolu, derivátu hřebíčkového oleje, u juvenilního pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Akutní toxicita a účinky mnohonásobně opakované expozice eugenolu v časovém rozpětí přibližně 8 – 96 hod. dosáhla při vyjádření v LC50 kolem 9 ppm (1 mg.l<sup>-1</sup>). Rovněž byl, za stejných okolností, sledován čas indukce a zotavení z anestézie a porovnán s MS 222. Eugenol všeobecně indukuje anestézii rychleji a při nižších koncentracích než MS 222. Zotavovací čas pro vystavení ryb eugenolu byl 6 – 10 krát delší, než při expozici ve stejné koncentraci MS 222.



Eugenol je vhodné a přijatelné anestetikum s množstvím použitelných pro užití v akvakultuře a akvatickém výzkumu. Dávky 40 – 60 ppm eugenolu navozují anestézii s relativně krátkým časem zotavení u juvenilních pstruhů. Hisaka a kol. (1986) ukázali, že účinnou anestézii u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) lze docílit při použití rozpětí koncentrací 25 - 100 ppm. Soto (1995) našel dávku  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  efektivní pro anestezii ryby *Siganus lineatus*. Ryba ztratí rovnováhu po 30 až 45 vteřinách a zotavení se dostaví kolem 3 min. Nízké dávky na úrovni 2 – 5 ppm vyvolávají útlum nervové soustavy, jež je dostatečný pro transport, zatímco dávky 40 – 60 ppm vyvolávají efektivní chirurgickou anestézii po dobu 3 – 6 minut. Ve všech případech byla dávka a čas podobné, vzrůstající exponenciálně s dobou expozice. Při krátké expozici bylo zotavení klidné, ale vždy mnohem delší než u MS 222. Opakovaná anestézie nemá negativní efekty a ochota přijímat podávanou potravu se rychle navrácí. Nedošlo k žádným úhynům a vedlejším účinkům na snížení rychlosti růstu. Při uskladnění zásobního roztoku o koncentraci  $10 \text{ cm}^3.\text{l}^{-1}$  ( $10 \text{ g.l}^{-1}$ ) bylo zjištěno, že po 3 měsících při pokojové teplotě je stále účinný. Hlavní výhodou hřebíčkového oleje je jeho nízká cena, snadné zacházení a absence škodlivých účinků pro lidi. Již dávka 17 ppm se zdá efektivní pro útlum nervové soustavy, indukce anestézie je bezstresová. Je výhodný k použití při výlovu komerčních druhů ryb (především lososovitých), kde vyvoláním nízké úrovně stresu zlepšuje kvalitu produktu především barvu, strukturu a vnější vzhled. Ačkoliv je hřebíčkový olej účinný, bezpečný pro ryby a člověka a je rovněž levný, někteří pracovníci se domnívají, že pomalý nástup indukce narkózy v doporučených koncentracích je málo účinný.

Grush a kol. (2004) studovali účinky anestetika hřebíčkového oleje - odvozeného eugenolu na daniích pruhovaných. Byla změřena akutní letalita a účinky expozice různým koncentracím eugenolu. Hodnota 96hLC50 pro eugenol byla určena na 21 ppm. Indukční a regenerační časy z anestézie byly změřeny a porovnány s anestetikem MS222 za stejných podmínek. Eugenol navodil anestézii rychleji a v nižších koncentracích oproti srovnávanému MS222. Čas zotavení pro ryby vystavené eugenolu byly obecně delší oproti porovnávaným stejným koncentracím MS222. Koncentrace 60-100 ppm eugenolu navodily rychlou anestézii s přijatelným krátkodobým časem zotavení. Tyto závěry naznačují, že by mohl eugenol být účinným anestetikem pro použití u tohoto druhu, obzvláště vezmou-li se v úvahu při srovnání s MS222 také jeho další výhody v podobě nízkých nákladů, nižších požadovaných koncentrací, vyšší bezpečnost a potenciálně nižší stupně úmrtnosti.

Anestetické efekty eugenolu byly studovány s odlišnými výsledky u *Siganus lineatus* (Soto a Burhanuddim, 1995) *Oryzian latipes* a *Carasius auratus* (karas stříbřitý). Kromě totální ztráty reakce strachu došlo při koncentraci 5 ppm eugenolu i ke ztrátě rovnováhy nebo

stočením ryby. Ryby byly schopny znovu získat normální pozici pro plavání, ale často se znovu o chvíli později stočí. Stálé ztráty rovnováhy bylo dosaženo mezi 6 až 8 hod. po zahájení experimentu se dostavení reakce strachu bylo zpozorováno mezi 10 a 12 hod. po začátku anestezie. Všechny ryby vystavené roztoku o koncentraci 1,2 a 5 ppm eugenolu přežily 96 h test. Nebyla u nich zpozorována mortalita, ani abnormální chování v období 12-14 dnů po zahájení. Při koncentraci 15 a 30 ppm eugenolu ryby ztratily rovnováhu velmi rychle a přestaly aktivně plavat. Během 1 hod. ryby z obou těchto koncentrací ležely na dně testovaného akvária a jejich ventilační rychlosti byly mnohem pomalejší než u kontrolní ryby. Ventilační rychlost ryb byla měřena – 1 dýchací pohyb během 10 min. Mortalita byla pozorována dříve než za 1 hod. experimentu a nejpozději 2 hod. při koncentraci 30 ppm eugenolu. Úhyn ryb byl zaznamenáván nejprve 2 hod. od začátku experimentu a nejpozději 8 hod. při koncentraci 15 ppm eugenolu. Mortalita ve výši 100 % byla zaznamenána pro obě použité koncentrace 15 a 30 ppm eugenolu při 3 opakováních na konci 96 hod. testu. Munday a Wilson (1997) porovnávali účinnost hřebíčkového oleje při anestézii ryby *Pomacentrus amboinensis* s účinky dalších anestetik: quinaldinem, 2-phenoxyetanolom a MS-222. Srovnávali čas dosažení anestézie, chování ryb během anestézie, dobu potřebnou na zotavení z anestézie a míru přežití ryb po expozici ryb těmito chemikáliím. Hřebíčkový olej byl mnohem účinnější než benzocain. Velíšek a kol. (2004) posoudili akutní toxicitu hřebíčkového oleje pro pstruha duhového a pomocí hodnot hematologického vyšetření, biochemického profilu krve a histologického vyšetření tkání posoudili stav tkání pstruhů duhových po působení tohoto anestetika. Akutní toxicita hřebíčkového oleje pro pstruha duhového byla stanovena 96hLC50 14,1 mg.l<sup>-1</sup>. Chmel (2002) posoudil anestetické účinky hřebíčkového oleje a stanovil akutní toxicitu hřebíčkového oleje pro kapra obecného, *Cyprinus carpio*. Stanovoval akutní toxicitu hřebíčkového oleje při 4 teplotách (10, 15, 20 a 25 °C), pokusy prováděl při 4 délkách expozice (5, 10, 20 a 40 minut) v lázni anestetika. Dále uvádí, že vyšší teplota je pro kapra obecného toxičtější než teplota nižší. Při testování toxicity hřebíčkového oleje bylo zjištěno, že se zvyšující se délkou expozice kapra v roztocích hřebíčkového oleje klesá vliv teploty. Vliv teploty vody na účinek hřebíčkového oleje a dosažení jednotlivých stupňů anestézie u sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) zjišťovala ve své diplomové práci Karvánková (2003) hřebíčkový olej byl testován při třech teplotách (20,0; 22,5 a 25 ± 0,3°C), efektivní dávkou pro teploty 20,0 a 22,5°C byla určena koncentrace 0,0675 ml.l<sup>-1</sup>. Při teplotě 20,0°C byla však doba nástupu III. fáze anestézie 1,1x pomalejší než při teplotě 22,5°C, efektivní dávkou pro 25,0°C byla stanovena koncentrace 0,0450ml.l<sup>-1</sup>. Z výsledků je patrné, že teplota má vliv na účinek anestetika. Při nižších

teplotách bylo nutné použít vyšší dávku anestetika pro dosažení shodných efektů. Endo a kol. (1972) a Hikasa a kol. (1986) hodnotí užívaný přípravek FA-100 (farmaceutická úprava s obsahem 10 % eugenolu) jako anestetikum pro pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a kapra obecného (*Cyprinus carpio*) o koncentraci mezi 25 - 100 mg.l<sup>-1</sup> jako efektivní.

Eugenol byl široce testován k určení jeho bezpečnosti pro člověka. Hřebíčková, hřebíčkový olej a eugenol jsou všeobecně uznávané jako bezpečné u lidí při hladině nepřevyšující 1500 ppm (USFDA 1978). Kromě toho eugenol a jeho konjugace a metabolity rychle odcházejí z krevního oběhu a tkání u lidí (Fischer a Dengler 1990) a nejsou považovány, za toxické, ani karcinogeny pro člověka, ani zvířata, včetně krys, myši a čínských křečků (Liu a Gibson 1977; Maura a kol. 1989; Fisher a kol. 1990; Phillips 1990; Zheng a kol. 1992). Existovaly úvahy, že koncentrace eugenolu použité pro anestézii ryb mohou mít negativní účinek pro ryby a malé, nebo žádné, účinky pro lidi, kteří konzumují ryby obsahující anestetikum. Čas návratu rovnováhy a obnovy reakce strachu byly podstatně delší (6 – 10 krát) u ryb anestetikovaných eugenolem, než MS 222. Tyto velké rozdíly v zotavovacích časech mezi dvěma anestetiky mohou být z důvodů povzbuzujících efektů MS 222 na respirační systém a srdce ryb (Randal 1962). Výsledný vzrůst u obou respirační a srdeční rychlosti může pomoci k vyvolání přebytku MS 222 z rybiho organismu, umožňuje mnohem rychlejší zotavení. Eugenol, jako mnohá další rybí anestetika, má zpomalující efekty na respirační systém ryby, shrnutý v pomalejší rychlosti a menší schopnosti k přendání přebytku anestetika z rybiho systému (McFarland 1959; Sekizawa a kol. 1971). Zdlouhavý zotavovací čas pro ryb vystavené eugenolu může mít malý účinek na účinnou operaci akvakulturního chovu ryb, především spojení s faktorem, že žádná mortalita nebyla zpozorována a ryb zotavovaných, určité problémy mohou vzniknout při výzkumech časově omezených. Endo a kol. (1972) zjistili malé rozdíly v zotavovacích časech pstruha duhového zklidňujícího roztoku vystaveného 50, 75 a 100 ppm roztoku eugenolu (mnohem nižší střední zotavovací čas je asi 5 min.). Rozpor může být příčinou velikostí nebo mortalitou ryb týkající se jak těchto faktorů, které mohou mít efekt na rychlost a reakce strachu exponenciálně vzrůstá s expozičním časem eugenolu, nižší koncentrace eugenolu jsou navrženy k minimalizování zotavovacího času. V akvakultuře jsou ryby jen výjimečně ponechávány v anestetických roztocích déle než 10 min. a obvykle méně než 6 min., nízké dávky eugenolu mohou poskytnout velký dočasný bezpečnostní přebytek. Eugenol má velké finanční přednosti, jak k využití v akvakultuře, tak v rybářském výzkumu, s ohledem na jeho extrémně nízkou cenu za kilogram a v souvislosti s relativně nízkými dávkami potřebnými pro jeho použití pro ryby. Soto a Burhanuddin (1995) a Anderson a kol. (1997) používali hřebíčkový

olej o koncentraci 33 – 120 mg.l<sup>-1</sup> u *Siganus lineatus* a pstruha duhového. Tato studie zkoumala bezpečnost a účinnost hřebíčkového oleje jako anestetika pro juvenilní a dospělé tichooceánské lososy (*Oncorhynchus chinok* a *O. coho*) a juvenilního pstruha duhového. U pstruha duhového docházelo ke ztrátě rovnováhy a totálnímu znehybnění. Při hodnocení reakčních časů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi účinkem jednotlivých preparátů s obsahem hřebíčkového oleje, při praktickém terénním použití, se všechny tři málo lišily. U dalších studií, byla hladina použité koncentrace 50 mg.l<sup>-1</sup> (byla vybrána jako střední dávka jako základ z předešlých studií) (Hikasa a kol. 1986; Anderson a kol. 1997). Byly zjištěny rozdíly při různé délce expozice. Čas pro střední letální koncentraci (LCT, při kterém 50 % testovaných ryb uhynulo) pro 50 mg.l<sup>-1</sup> dávky u pstruha duhového byla mezi 20 a 30 min. Následně byla hodnocena LC50 při 3 min. vystavení roztoku hřebíčkového oleje o koncentraci 250 mg.l<sup>-1</sup>. Hřebíčkový olej se na základě provedených podrobných pokusů jevil jako schopné anestetikum pro použití v akvakultuře. V koncentraci 25 mg.l<sup>-1</sup> poskytuje rychlou nehybnost, rychlé zotavení, není toxický pro sledované druhy ryb a je levnější, než jiná anestetika. Cena hřebíčkového oleje pro roztok o objemu 10 l vody činí 0,003 USD, při použití MS 222 je to více než 0,12 USD. Může vyvolávat jen malé problémy pro savce, je nutno ale ještě provést histologická sledování. Hřebíčkový olej se jeví jako bezpečný pro používání u jeseterovitých a lososovitých ryb. Budou ale nutné další studie jeho účinku a bezpečnosti i pro další druhy ryb v akvakultuře.

I podle výzkumu a hodnocení dalších autorů hřebíčkový olej ukázal, že je v poslední době úspěšným anestetikem pro ryby (Soto a Burhanuddin 1995). Tento přípravek hodnotí uvedení autoři jako vysoce účinné rybí anestetikum s teoreticky malými nebo žádnými vedlejšími efekty. Ryby byly schopny krátce po zotavení z anestézie při krmení přijímat potravu. Při jeho použití nebyla zaznamenána žádná mortalita ryb.



### 3. Popis a charakteristika testovaného druhu ryby (kapr obecný)

Řád: MÁLOOSTNÍ (*Cyprinoformes*)

Čeleď: **Kaprovití** (*Cyprinidae*)

**Kapr obecný** (*Cyprinus carpio*)

Původním areálem rozšíření kapra obecného je oblast východní Evropy a Asie až po úmoří Tichého oceánu a Japonska. Jsou popisovány čtyři zeměpisné oblasti, kde je endemickým druhem. Tomu odpovídá rozlišování čtyř poddruhů:

*Cyprinus carpio carpio* (Malá Asie, oblast Černého a Kaspického moře)

*Cyprinus carpio aralensis* (střední Asie),

*Cyprinus carpio haematopterus* (povodí Amuru, Korea, Čína, Japonsko)

*Cyprinus carpio viridiviolaceus* (povodí Rudé řeky ve Vietnamu).

Ve střední a západní Evropě je původní jen v Dunaji a některých jeho přítocích. V procesu domestikace došlo k jeho šíření do ostatních částí Evropy s výjimkou severních oblastí. Toto šíření probíhalo již od éry Říma. Výskyt původního divokého kapra v současnosti je v celém povodí Dunaje vzácný. Nelze zcela vyloučit jeho výskyt v oblasti soutoku Moravy a Dyje, neboť zde dochází k úlovkům ryb vzhledově připomínajících původního divokého kapra, tzv. dunajského sazana. Uvažuje se o záměrném chovu původní divoké formy pro účely vysazování násad do dolního toku Dyje. Kapr je celosvětově rozšířeným druhem. Hospodářský význam má v Evropě a Asii. V některých oblastech je druhem nežádoucím (Austrálie).

Původní divoký kapr má nízké, protažené, válcovité tělo pokryté šupinami. V průběhu domestikace se některé znaky podstatně změnily. Navíc existuje značná variabilita, protože v procesu šlechtění vzniká řada morfologicky různých linií a užitkových kříženců. Kapr má robustní, ze stran mírně stlačené tělo, v břišní a hřbetní partii vyklenuté. Hlava je poměrně krátká, tupě zakončená. Spodní vysunovatelná ústa jsou opatřena dvěma páry vousků. Jeden pár kratších vousků je na horním rtu, druhý pár delších je v koutcích úst. Tělo je kryto velkými cykloidními šupinami nebo je množství šupin redukováno a vznikají formy lysý, řádkový a hladký kapr. Hřbetní ploutev je protažena. Poslední tvrdý paprsek hřbetní a řitní ploutve je pilovitý. Výška těla je velmi proměnlivým znakem. Primitivní formy jsou protáhlé u kulturních forem je možné rozlišit formy nízkohřbeté a vysokohřbeté. Po vysazení rybníčních forem do tekoucích vod se výška těla časem snižuje (někdy se používá označení říční forma). Hřbet je tmavozelený, šedý nebo šedomodrý, boky žlutozelené až nazlátlé, břicho žlutobílé. Hřbetní a ocasní ploutve jsou šedé, ocasní a řitní s načervenalým nádechem,

párové jsou žlutavé nebo načervenalé. Ve zbarvení je značná variabilita, patrná zvláště u lisců, v závislosti na podmínkách a genetickém založení. Jsou známy barevné mutace (zlatá forma a více barevně vybarvený kapr "koi"). Vzácně se vyskytují i dlouhoploutvé formy kapra. Pohlavní dimorfismus je patrný hlavně v předvýtěrovém období. Mlíčáci jsou štíhlejší, močopohlavní otvor mají protáhlý, šterbinovitý. Již při mírném tlaku na břišní dutinu uvolňují mlíčí. V době tření mají drobnou třecí vyrážku na hlavě, bocích v oblasti postranní čáry, ocase a na tvrdých paprscích hřbetní a řitní ploutve. Jikernačky mají nápadně zvětšenou břišní dutinu (v poslední fázi uvolněnou, měkkou), močopohlavní papilu okrouhlou, zduřelou, narůžovělou. Třecí vyrážka chybí nebo je v malé míře na hlavě. Kapr dorůstá velikosti 1 m a hmotnosti 20 kg i více. Šupinový vzorec je 5 -7 (32 -41) 5 -7, požerákové zuby jsou třířadé 1.1.3 - 3.1.1.

Obývá všechny typy mírně tekoucích a stojatých vod. Optimální teplota, pro chov je 20 až 26 °C. Starší ročníky snáší výkyvy pH v rozmezí 5 až 10. Obsah kyslíku by v letních měsících neměl klesat pod 4 mg v 1 litru, v zimě pod 2 mg v 1 litru. Krátkodobě přežívá i nižší hodnoty. Snáší zákal vody.

Tvoří hejna, ryby se pohybují jak u dna, tak ve vodním sloupci nebo u hladiny. Za teplého počasí vyplouvají do mělčin. Potravní aktivita klesá s teplotou vody. Násady a tržní ryby přestávají přijímat potravu při 7 až 8 °C zimní období přečkávají v "ložích" u dna ve stavu zimního klidu. Metabolismus je velmi zpomalen, energie je získávána z tělních zásob. Naproti tomu plůdek je aktivní i při nízkých teplotách. Potravu přijímá ještě při 4 až 5°C. Kapr je všežravec.

Růst je rychlý, v rybničním chovu docílují toto průměrné tempo: K1 dosahuje hmotnosti 30 g (15 až 100 g), K2 200 až 400 g, K3 nad 1 kg, v dalších letech: přirůstá 1 až 1,5 kg ročně. V dobrých podmínkách může růst rychleji. Kapr je dlouhověký druh, dožívá se až 40 let. Mlíčáci pohlavně dospívají ve 3. až 4. roce, jikernačky o rok později. Výtěr probíhá v květnu a červnu při teplotě vody 18 až 20 °C. Je fytofilním druhem. Jikry jsou žlutozelené, lepivé, před nabobtnáním asi 1 mm, po nabobtnání 1,3 až 1,8 mm velké. Relativní plodnost je 100 až 200 tis. kusů jiker na 1 kg hmotnosti jikernaček, vývoj trvá 60 až 70 denních stupňů. Vylíhlé embryo měří 6 až 7 mm a na vnější výživu přechází 3. až 5. den od vykolení.

Kapr obecný je náš hospodářsky nejvýznamnější druh. Tvoří necelých 86-87 % celkové produkce tržních ryb (ta dosahuje v ČR v průměru 20 tis. tun ročně). Je také nejvýznamnější sportovně loveným druhem ryby. Ročně se u nás na udici uloví více než 1,5 tis. t této ryby (z celkových přibližně 4,5 tis. t ryb). Kapr má velmi kvalitní, chutné a poněkud tučnější maso.

## 4. Materiál a metodika

### 4.1. Materiál

Pokusy probíhaly v prostorách recirkulačního modelového systému VÚRH Vodňany a v jeho areálu. Pro testování bylo použito anestetikum hřebíčkový olej, který byl zakoupen v lékárně. Testy byly prováděny na Kapru obecném (*Cyprinus carpio*) z čeledi kaprovití (*Cyprinidae*). Ryby původem z rybníčního chovu ve VÚRH JU Vodňany byly přechovávány v průtočných laminátových žlabech, napájených čerpanou vodou z rybníka (bez možnosti regulace teploty vody) nebo byly umístěny v prostorách odchovné haly VÚRH (s možností regulace teploty). Regulace teploty se používala pouze v případech pokud hrozilo, že v období předpokládaného pokusu přírodní podmínky nedovolí pokus provést (nevyhovující teplota, zákal vody apod.). Vlastní postup prací spočíval nejprve v adaptaci experimentálních ryb před vlastními pokusy na určenou teplotu vody. Teplota se postupně zvyšovala nebo snižovala na požadovanou teplotu, ne však více než o 1°C za den, aby nedošlo k teplotnímu šoku a nebyl tím ovlivněn pokus. Ryby pak byly adaptovány na požadované teplotě minimálně 2 dny v toleranci  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ . Pro pokusy v odchovné hale se používala vodovodní odstátá a provzdušněná voda (beze zbytků volného chlóru, s dostatkem rozpuštěného kyslíku, jehož obsah se blížil hodnotě 100 % nasycení), pro pokusy ve venkovním areálu byla použita voda čerpaná s rybníka s přítokem s nedalekého náhonu řeky Blanice.

Veškeré materiální zabezpečení mi bylo poskytnuto ve VÚRH JU Vodňany. Pokusy probíhaly u tří velikostních kategorií K1, K2, K3 a to v odlišných pokusných nádobách pro každou kategorii ryb v závislosti na jejich velikosti. Průměrná hmotnost K1 byla 40 g a průměrná celková délka těla byla 13,4cm, průměrná hmotnost K2 byla 468 g a průměrná celková délka těla byla 30,3 cm, průměrná hmotnost K3 byla 3812 g a průměrná celková délka těla byla 60,3 cm. Pro vlastní sledování průběhu anestézie byla u K1 použita skleněná akvária o objemu 30l, pro K2 cejchované vaničky o objemu 50l a pro K3 cejchované rybářské kádě o objemu 500l. Dalšími nezbytnými součástmi materiálního zabezpečení byly vzduchovací motorek, digitální váha, měřidlo, odměrná nádoba, pipeta, teploměr a pomůcky pro manipulaci s rybami.

## 4.2. Příprava anestetické lázně

Do testovací nádoby (akvárium, vanička, kád') bylo naměřeno odměrnou cejchovanou nádobou požadované množství vody o známé teplotě s tolerancí  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ . Teplota byla během experimentu neustále kontrolována a udržována na původní hodnotě. Do téže nádoby bylo poté odpipetováno požadované množství anestetika hřebíčkový olej pro danou koncentraci v závislosti na množství vody v pokusné nádobě. Po přidání anestetika byl roztok důkladně promíchán miskou nebo v případě většího objemu (kád') vědrem, aby se anestetikum rovnoměrně rozptýlilo v celém objemu pokusné nádoby. Nezbytné je důkladné promíchání hlavně při nízké teplotě vody kdy má anestetikum hřebíčkový olej nižší rozpustnost a má též tendenci tvořit na dně malé kuličky oleje, které mohou při vdechnutí rybou velice zkreslit a ovlivnit výsledky celého pokusu. Všechny mnou provedené pokusy byly prováděny se vzduchováním jak v anestetickém roztoku tak i v odeznívacích nádobách s čistou vodou.

Koncentrace anestetika a teploty při prováděných pokusech mi byly doporučeny vedoucím diplomové práce. Pokusy probíhaly při pěti teplotách (5, 10, 15, 20,  $25^{\circ}\text{C}$ ), čtyřech koncentracích (0,025, 0,030, 0,040,  $0,060 \text{ ml.l}^{-1}$ ) a třech velikostních skupinách ryb (K1, K2, K3).

## 4.3. Metodika vlastního experimentu

Aklimatizované pokusné ryby byly loveny z laminátového průtokového žlabu, sádky do předem připravené vaničky v případě větších ryb do kádě. Zde ryby zůstávaly až do doby vlastního experimentu kdy se přemístily do nádoby s předem připraveným roztokem anestetika. Pokusné ryby byly z laminátového žlabu vybírány náhodně bez jakýkoliv kritérií. Teplota vody v anestetické lázni i v odeznívacích nádržích odpovídala teplotě vody na kterou byly ryby aklimatizovány.

Experiment probíhal vždy s deseti jedinci na jedné teplotě, jedné koncentraci a u jedné velikostní kategorii ryb. Od okamžiku ponoření ryb do lázně byly spuštěny stopky a zaznamenáván čas nástupu jednotlivých fází anestézie a změn chování ryb. Sledování probíhalo vždy současně u dvou pokusných ryb najednou.

Po uplynutí 10-ti minut byly ryby okamžitě přeloveny do nádrže s čistou provzdušněnou a odstátou vodou, bez ohledu na to kdy a zda vůbec upadly do jednotlivých



zí anestézie. V této nádrži byl měřen čas jednotlivých fází odeznívání anestézie. Při anestézii i jejím odeznívání byly ryby pozorovány individuálně. Pro každý pokus bylo použito deset náhodně vybraných jedinců zvolené velikostní kategorie ryb. Pro určení a odlišení jednotlivých fází anestézie a odeznívání byla použita charakteristika uváděná Kazuňem a kol. (1999).

Pro provedení testu byly jednotliví jedinci zváženi a změřeni. Měřítkem byla získána celková délka těla ryby (vzdálenost od přední části rypce do konce nejdelšího paprsku ocasní kosti) a délka těla (vzdálenost od přední části rypce po konec ošupení ocasního násadce). Ryby na digitální váze byly přesně zváženy. Pohlaví ryb z důvodu věku a velikosti některých jedinců nebylo zjišťováno.

Tab. 1.: Charakteristiky fází anestézie a odeznívání u ryb (podle Kazuňa a kol. 1999)

	Fáze	Charakteristika
Anestézie	0 – Klidu	Fyziologická poloha. Normální pohybová aktivita. Ryby spokojeně plavou, vyhýbají se bez námahy překážkám a pravidelně dýchají.
	I – Vzrušení (vydráždění)	Fyziologická poloha. Zvýšená změna místa, aktivita, neklid, rychlé plavání, nevyhýbají se překážkám při plavání, vykazují velice silné obranné reflexi, nepravidelné dýchací pohyby, u některých druhů mělké dýchací pohyby nebo naopak výrazné, silně roztažená žábra.
	II a – Celkové povrchní znecitlivění	Snížená aktivita, pomalé naklánění se na bok, oslabené nebo žádné obranné reflexi, dýchací pohyby se zpomalené, pravidelné, intenzivní a hluboké.
	II b – Celkové úplné znecitlivění	Boční poloha, ztráta pohyblivosti, nevykazují žádné obranné reflexi, kromě reflexu akusticky,  Dýchací pohyby jsou pravidelné, hluboké a zpomalují se.
	III – Zástava dýchání	Boční postavení, dýchací pohyby zastavené nebo jen povrchní (mělké) až zanikající, bez obranných reflexů (včetně akustického).

Odezňívání	II b	Boční poloha, akustický reflex, pravidelné dýchání.
	II a	Změna z boční polohy do fyziologické polohy, nekoordinované pohyby, pravidelné dýchání.
	I	Fyziologická poloha, zahájení pomalého plavání, nekoordinované pohyby, nevyhýbá se překážkám (naráží do nich) při plavání.
	0	Fyziologická poloha, normální pohybová aktivita, normální plavání, vyhýbání se překážkám při plavání.

Během experimentu byly vedeny protokoly, do kterých se zaznamenávaly všechny důležité údaje pro další zpracování výsledků: teplota při které pokus probíhal, koncentrace anestetika v lázni, velikostní kategorie ryb, jednotlivé časy nástupu fází anestézie a fází odezňívání pro jednotlivé ryby dále se zde také uvádí hmotnost ryby, délka těla, celková délka těla, výrobní šarže anestetika a datum pokusu.

#### 4.4. Metodika vyhodnocení

Z údajů, které jsem získal, byl vypočítán průměrný čas nástupu a odezňívání fází u jednotlivých velikostních kategorií, koncentrací a teplot a zároveň i průměrné doby trvání příslušných fází. Veškeré tabulky, grafy a výpočty byly prováděny v programu Microsoft Excel a statistické zpracování v programu Statistika 6.

## 5. Výsledky

Pokusy s anestetikem, hřebíčkový olej, probíhaly od října 2003 do července 2005 a to u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) při čtyřech koncentracích (0,025, 0,030, 0,040 a 0,060 ml/l), pěti teplotách (5, 10, 15, 20 a 25°C) a u tří velikostních kategorií kapra (K1, K2, K3).

Kapr obecný pocházel z rybničního chovu VÚRH Vodňany a byl v poměru 1:1 šupinatý k lysému, avšak tento vliv na anestézii nebyl předmětem zkoumání této práce stejně tak jako vliv pohlaví.

Během všech pokusů nedošlo k úhynu žádného jedince a to ani při nejvyšší koncentraci anestetika v kombinaci s nejvyšší teplotou vody.

Plánované pokusy nebyly provedeny pouze u K3 na nejvyšší teplotě 25°C a u Kr na všech teplotách a to z důvodů technických a klimatických.

### Výsledky K1

#### *Anestézie*

Pokusy probíhaly u čtyřiceti náhodně vybraných ryb jejichž průměrná váha byla 40g a průměrná celková délka těla byla 13,4cm. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2b při 5°C byla u nejnižší koncentrace 0,025ml/l 373s, u nejvyšší koncentrace 0,060ml/l byla 204s, při 10°C byla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 334s a u nejvyšší 126s, při teplotě 15°C dosáhla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace hodnoty 474s a u nejvyšší 132s, při teplotě 20°C byl průměr doby nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 310s a u nejvyšší 173s, při nejvyšší pokusné teplotě 25°C byl průměr doby nástupu fáze 2b při nejnižší koncentrace 390s a u nejvyšší koncentrace 146s (graf 1.,3.,5.).

#### *Odeznívání*

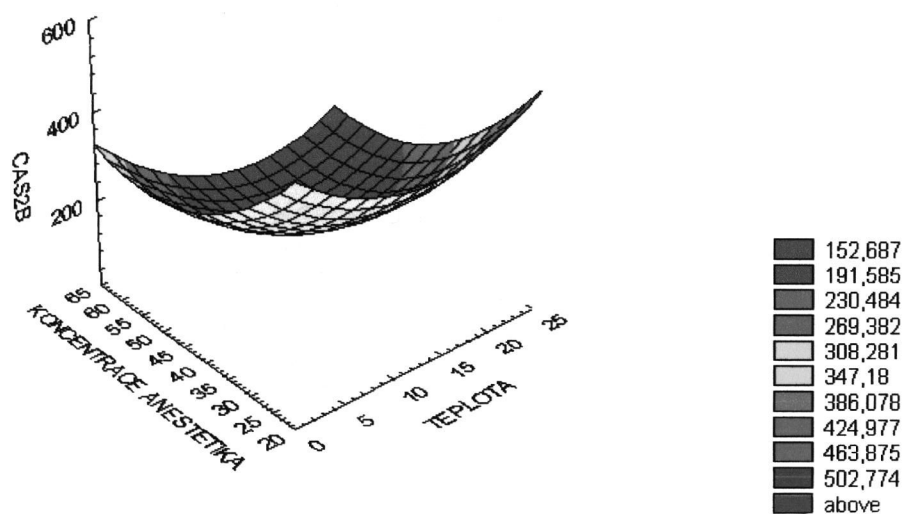
Fáze odeznívání nastala po deseti minutách anestezie kdy byly pokusné ryby přemístěny z nádoby ve které probíhala do nádoby kde probíhalo odeznívání v čisté a provzdušněné vodě a tím tato fáze navazovala na celý pokus.

Průměrná doba odeznívání při 5°C byla u nejnižší použité koncentrace 0,025ml/l 928s a u nejvyšší 1474s, při 10°C dosahovala průměrná délka odeznívání u nejnižší koncentrace hodnoty 1048 s a u nejvyšší koncentrace 1575 s, při teplotě 15°C bylo dosaženo průměru 621s při nejnižší koncentraci a 1313s při nejvyšší koncentraci, u teploty 20°C a nejnižší

Graf 3. Střední hodnota doby nástupu fáze 2B

K1

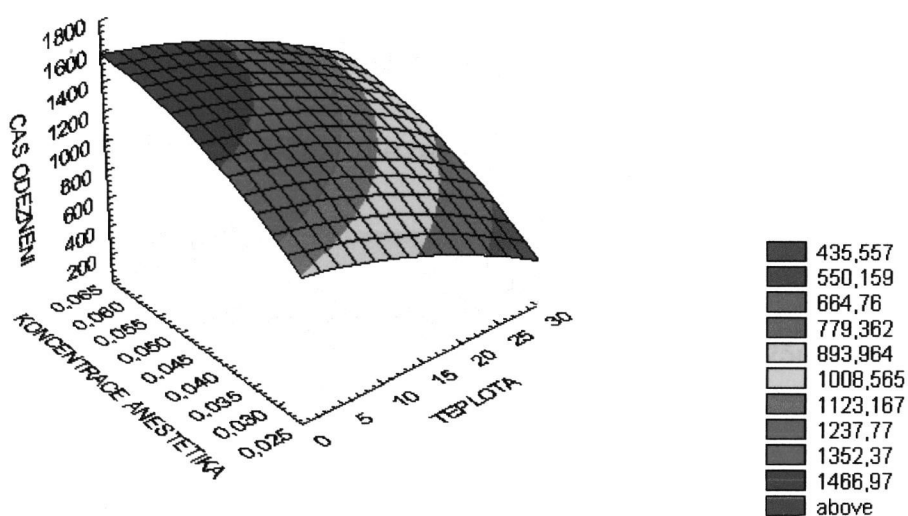
$$z=915,545-18,352*x-22,983*y+0,743*x*x-0,094*x*y+0,214*y*y$$



Graf 4. Střední hodnota délky doby odeznění anestezie

K1

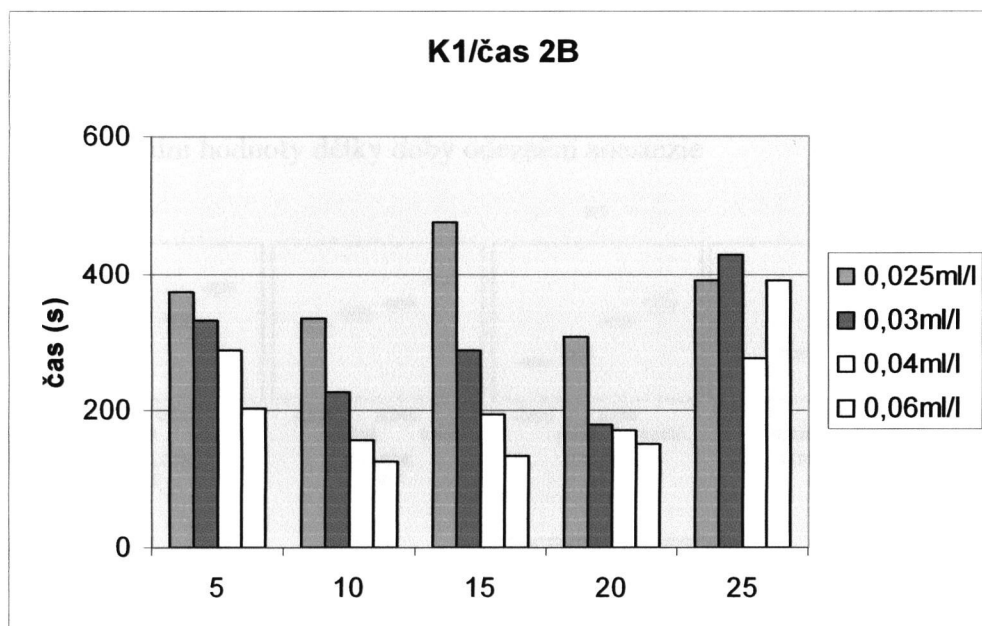
$$z=110,79-10,894*x+43693,53*y-0,404*x*x+14,031*x*y-3,241e5*y*y$$



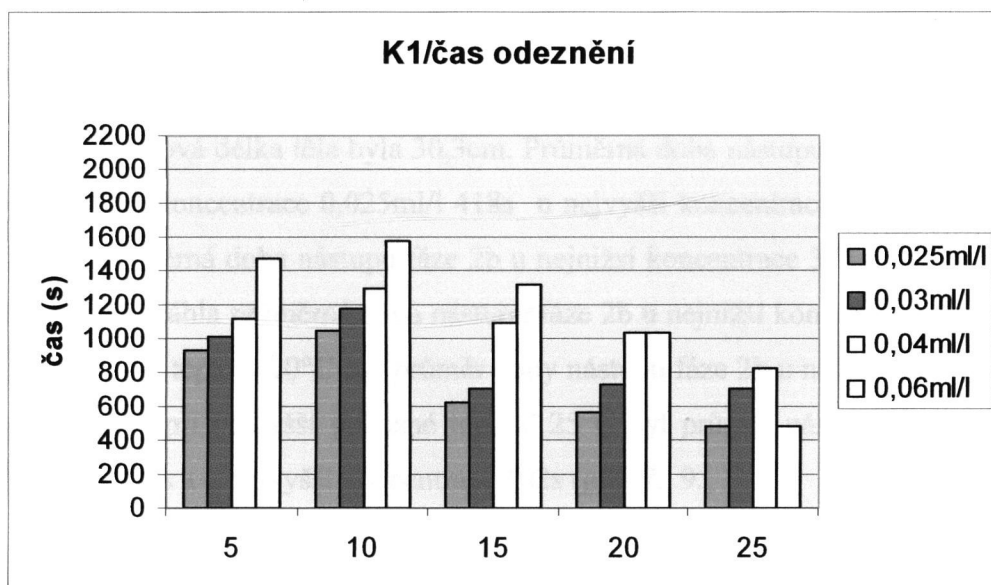
koncentrace byla průměrná hodnota času odeznívání 566s a u nejvyšší koncentrace 1035s, při poslední pokusné teplotě 25°C byla průměrná hodnota u nejnižší koncentrace 488s a u nejvyšší 1026s (graf 2., 4., 6.).

Veškeré dílčí i průměrné výsledky hodnot pokusů jsou zaznamenány v příloze v tabulkách příloh 1.-20.

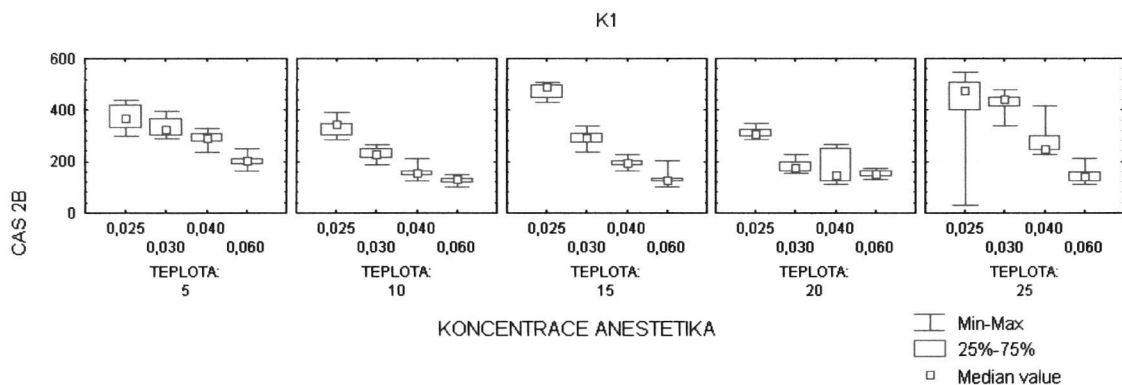
Graf 1. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2B



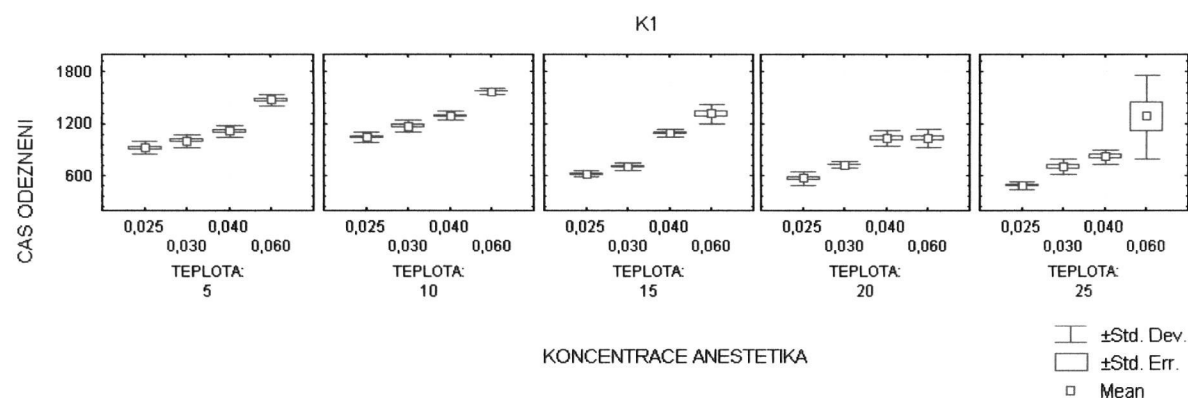
Graf 2. Průměrná délka doby odeznění anestezie



Graf 5. Střední hodnoty doba nástupu fáze 2B



Graf 6. Střední hodnoty délky doby odeznění anestezie



## Výsledky K2

### Anestézie

Pokusy probíhaly u čtyřiceti náhodně vybraných ryb jejichž průměrná váha byla 468g a průměrná celková délka těla byla 30,3cm. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2b při 5°C byla u nejnižší koncentrace 0,025ml/l 418s u nejvyšší koncentrace 0,060ml/l byla 214s, při 10°C byla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 316s a u nejvyšší 245s, při teplotě 15°C dosáhla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace hodnoty 474s a u nejvyšší 98s, při teplotě 20°C byl průměr doby nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 271s a u nejvyšší 87s, při nejvyšší pokusné teplotě 25°C byl průměr nástupu fáze 2b při nejnižší koncentrace 549s a u nejvyšší koncentrace 102s (graf 7., 9., 11.).

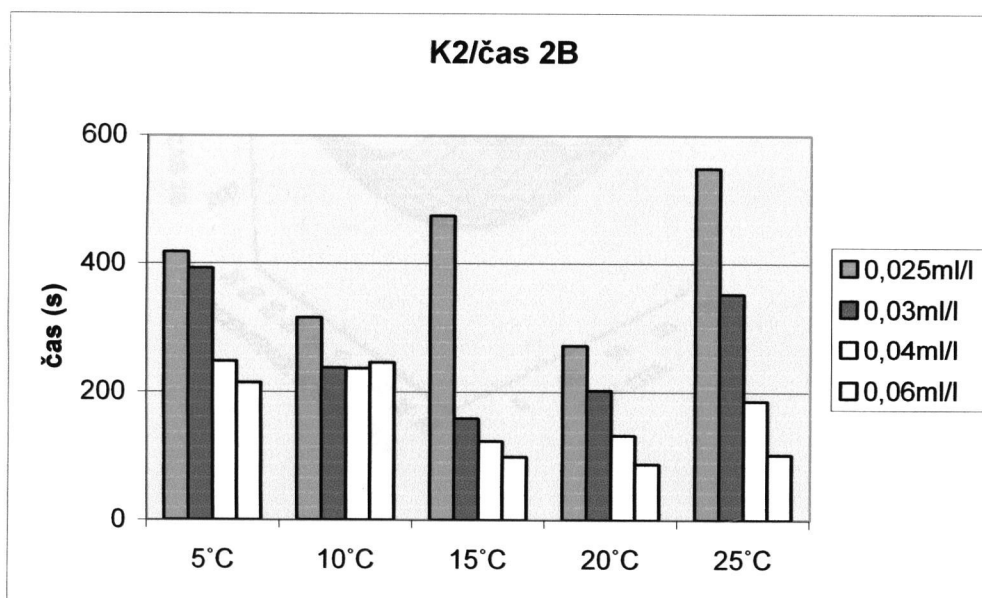
## Odezňování

Fáze odeznívání nastala po deseti minutách anestezie kdy byly pokusné ryby přemístěny z nádoby ve které probíhala do nádoby kde probíhalo odeznívání v čisté a provzdušněné vodě a tím tato fáze navazovala na celý pokus.

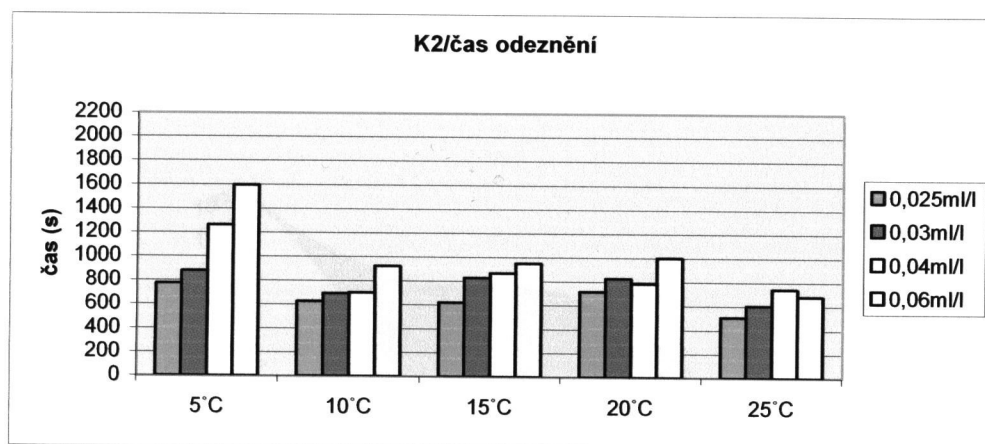
Průměrná doba odeznívání při 5°C byla u nejnižší použité koncentrace 0,025 776s a u nejvyšší 1596s, při 10°C dosahovala průměrná délka odeznívání u nejnižší koncentrace hodnoty 624s a u nejvyšší koncentrace 924s, při teplotě 15°C bylo dosaženo v průměru 621s při nejnižší koncentraci a 951s při nejvyšší koncentraci, u teploty 20°C a nejnižší koncentrace byla průměrná hodnota času odeznívání 717s a u nejvyšší koncentrace 1001s, při poslední pokusné teplotě 25°C byla průměrná hodnota u nejnižší koncentrace 507s a u nejvyšší 681s (graf 8., 10., 12.).

Veškeré dílčí i průměrné výsledky hodnot pokusů jsou zaznamenány v příloze v tabulkách 21.-40.

Graf 7. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2B



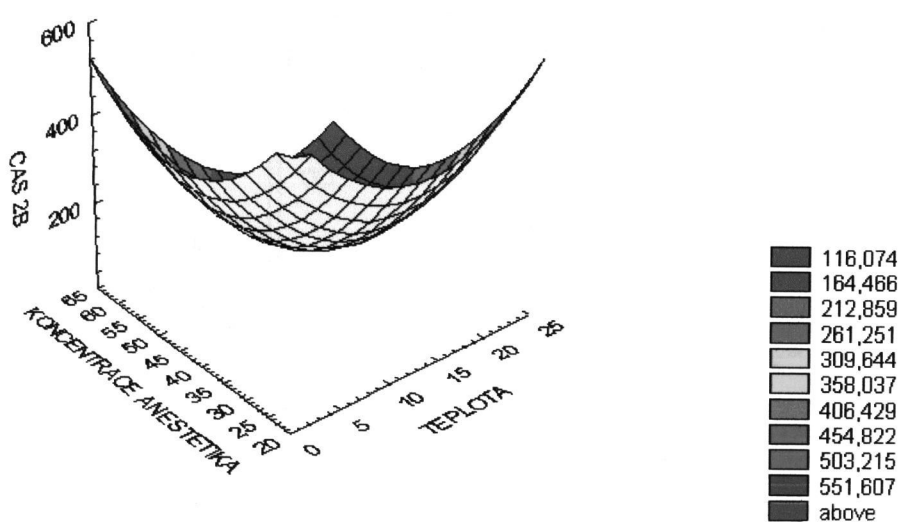
Graf 8. Průměrná délka doby odeznění anestezie



Graf 9. Střední hodnota doby nástupu fáze 2B

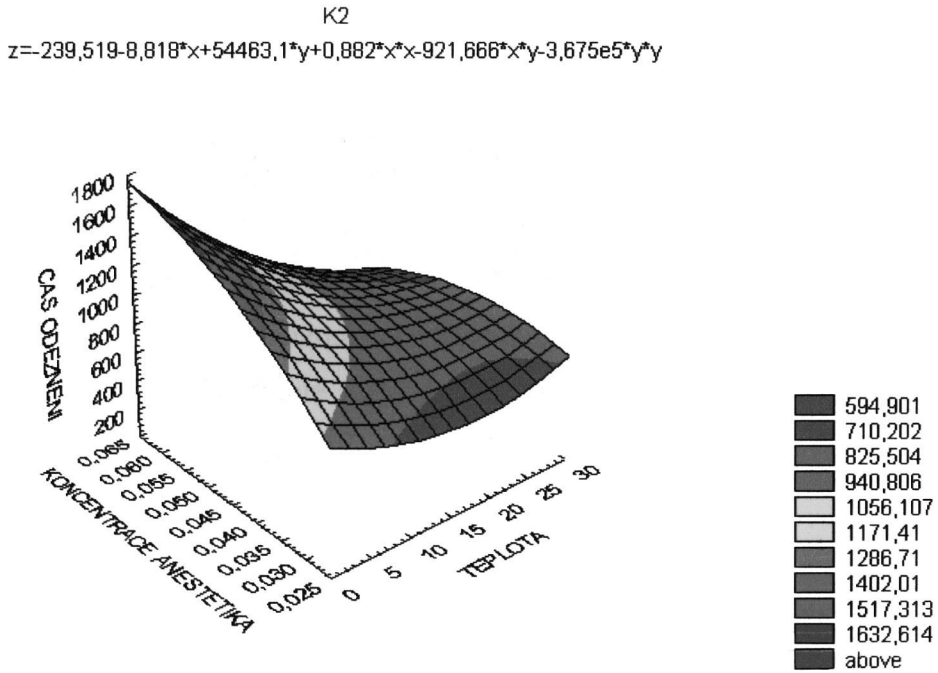
K2

$$z = 1125,156 - 26,448 \cdot x - 30,833 \cdot y + 1,177 \cdot x^2 - 0,273 \cdot x \cdot y + 0,332 \cdot y^2$$

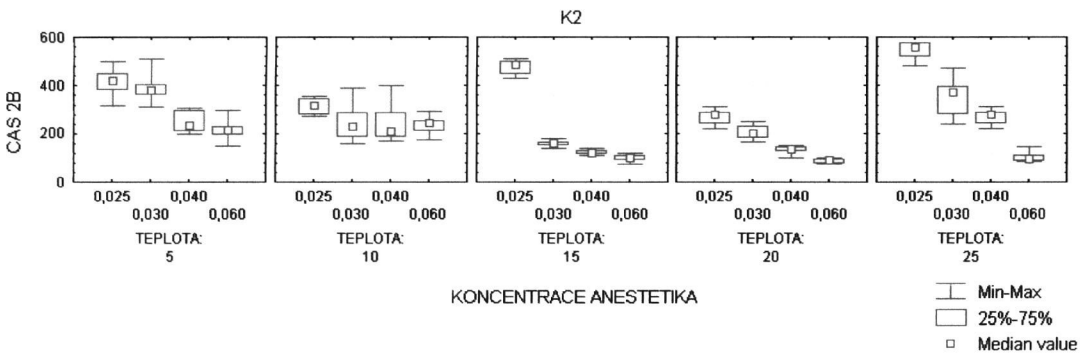




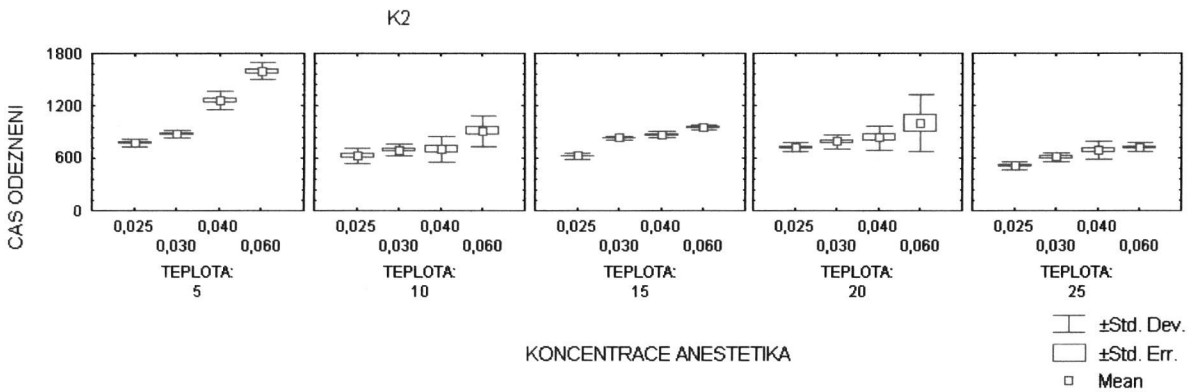
Graf 10. Střední hodnoty délky doby odeznění anestezie



Graf 11. Střední hodnoty doby nástupu fáze 2B



Graf 12 Střední hodnoty délky doby odeznění anestezie



## Výsledky K3

### *Anestézie*

Pokusy probíhaly u čtyřiceti náhodně vybraných ryb jejichž průměrná váha byla 3812g a průměrná celková délka těla byla 60,3cm. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2b při 5°C byla u nejnižší koncentrace 0,025ml/l 449s a u nejvyšší koncentrace 0,060ml/l byla 207s, při 10°C byla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 323s a u nejvyšší 104s, při teplotě 15°C dosáhla průměrná doba nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace hodnoty 300s a u nejvyšší 101s, při teplotě 20°C byl průměr doby nástupu fáze 2b u nejnižší koncentrace 330s a u nejvyšší 114s (graf. 13., 15., 17.).

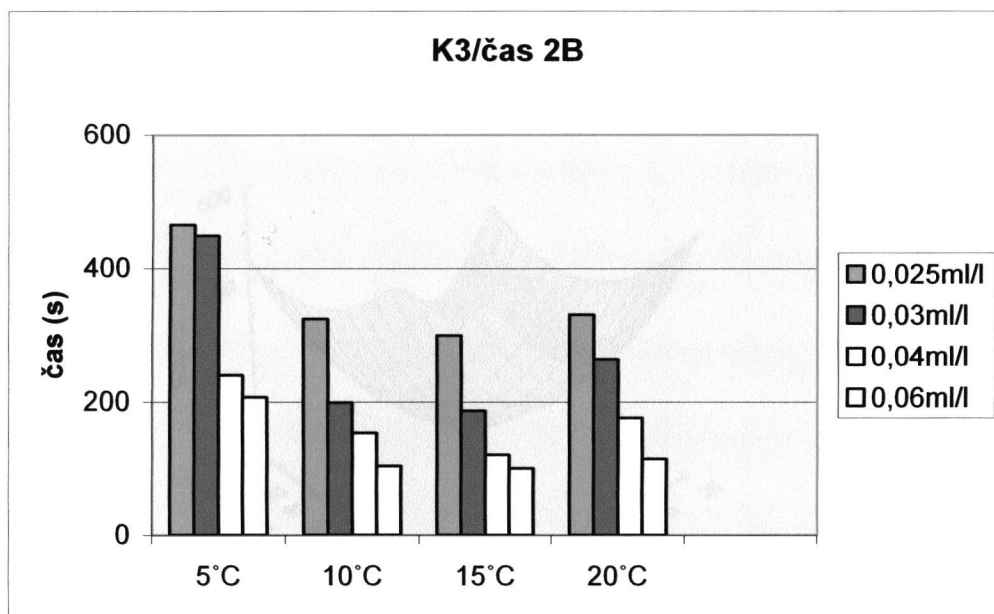
### *Odezdnívání*

Fáze odeznívání nastala po deseti minutách anestezie kdy byly pokusné ryby přemístěny z nádoby ve které probíhala do nádoby kde probíhalo odeznívání v čisté a provzdušněné vodě a tím tato fáze navazovala na celý pokus.

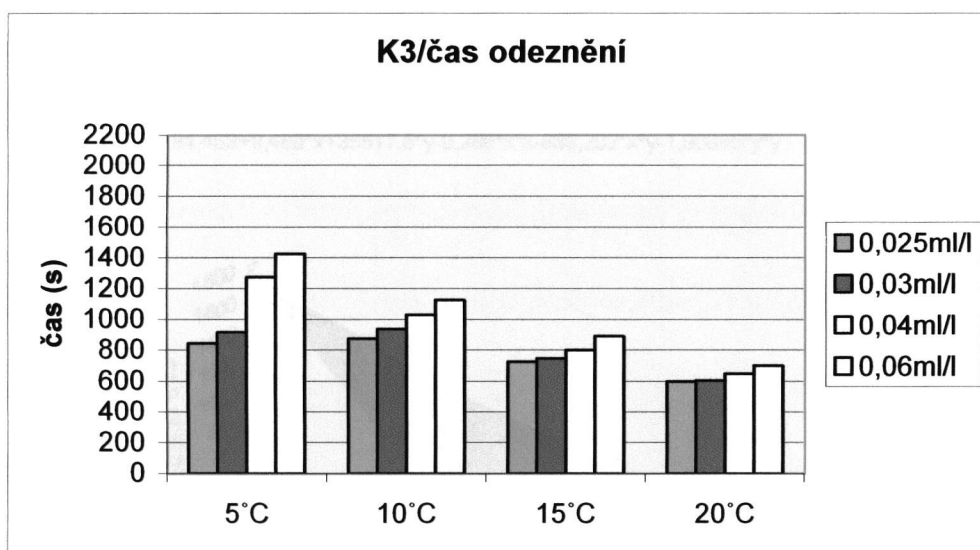
Průměrná doba odeznívání při 5°C byla u nejnižší použité koncentrace 0,025 842s a u nejvyšší 1426s, při 10°C dosahovala průměrná délka odeznívání u nejnižší koncentrace hodnoty 936s a u nejvyšší koncentrace 873s, při teplotě 15°C bylo dosaženo průměru 751s při nejnižší koncentraci a 889s při nejvyšší koncentraci, u teploty 20°C a nejnižší koncentrace byla průměrná hodnota času odeznívání 611s a u nejvyšší koncentrace 699s (graf. 14., 16., 18.).

Veškeré dílčí i průměrné výsledky hodnot pokusů jsou zaznamenány v příloze v tabulkách 41.-56.

Graf 13. Průměrná doba nástupu fáze anestezie 2B

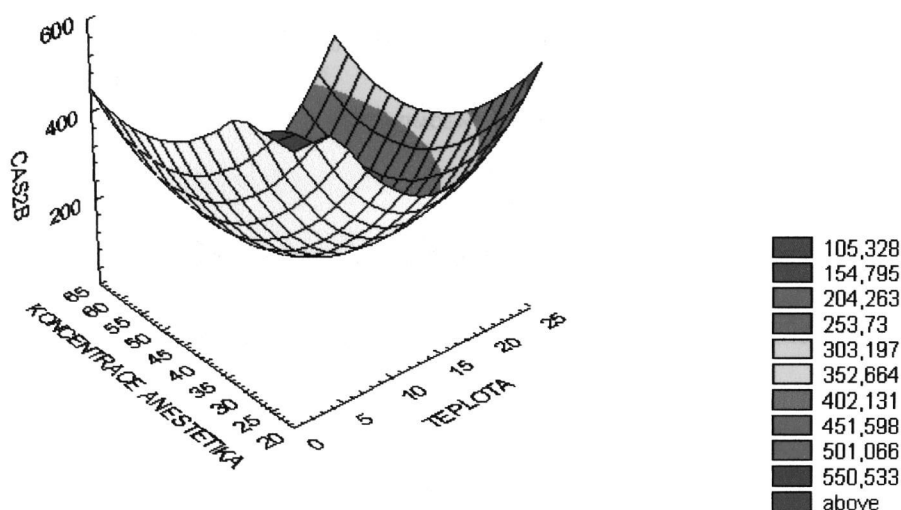


Graf 14. Průměrná délka doby odeznění anestezie



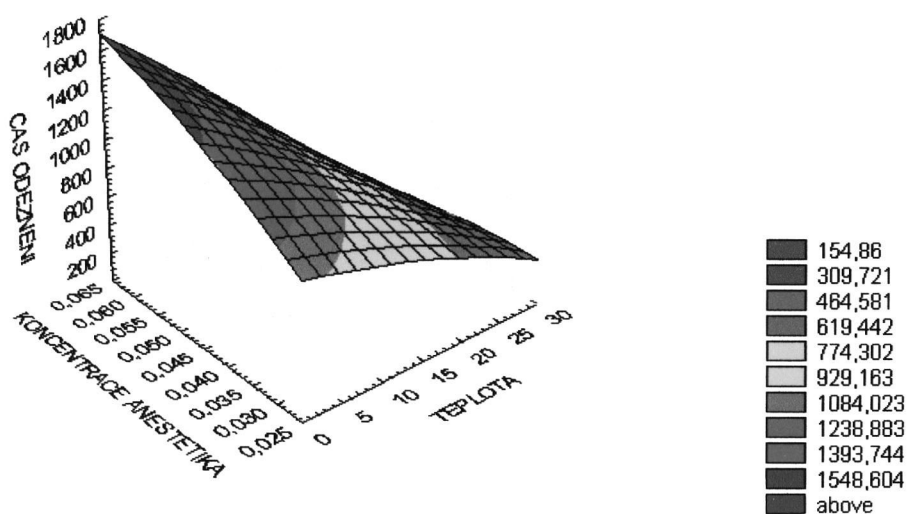
Graf 15. Střední hodnota doby nástupu fáze 2B

K3  
 $z=1339,08-59,869*x-32,601*y+1,897*x*x+0,128*x*y+0,29*y*y$

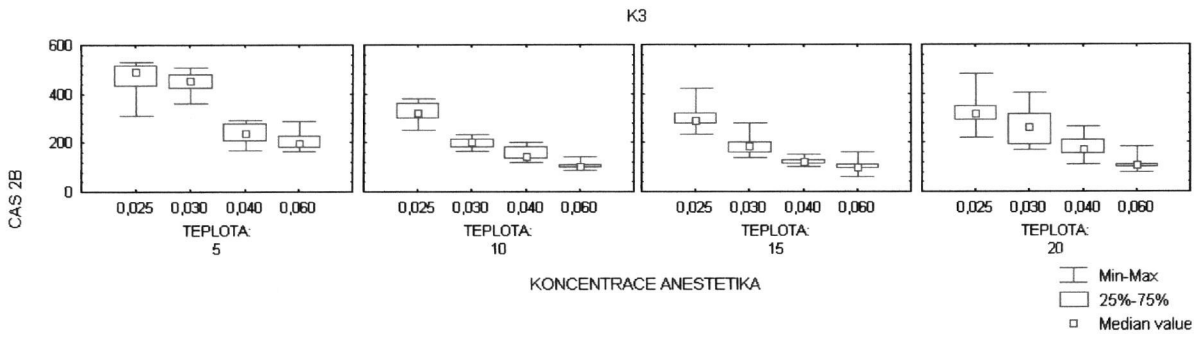


Graf 16. Střední hodnoty délky doby odeznění anestezie

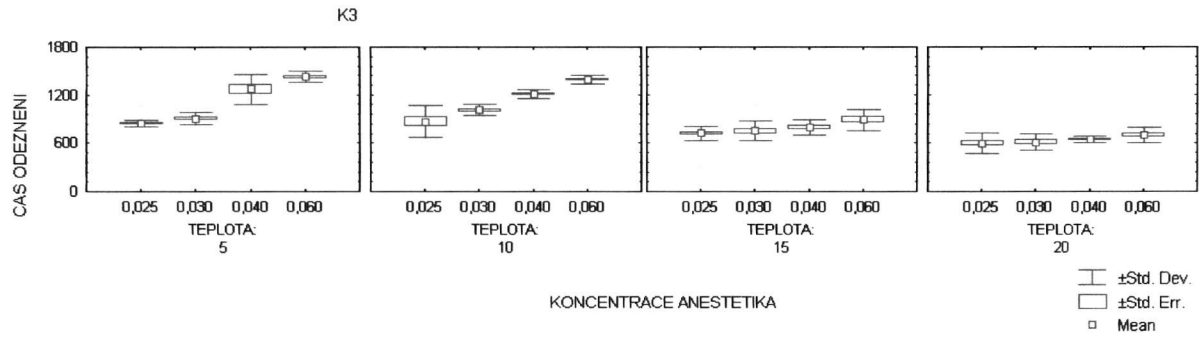
K3  
 $z=194,463+9,489*x+35617,5*y-0,288*x*x-898,202*x*y-1,908e5*y*y$



Graf 17. Střední hodnoty doby nástupu fáze 2B



Graf 18. Střední hodnoty délky doby odeznění anestezie



schopnost lososovitých ryb objevit tyto chemické podněty by ovlivnily jejich informace související se schopností migrovat.

Pro anestézii pstruha duhového doporučil Griffiths (2000) koncentraci  $40 \text{ mg.l}^{-1}$  hřebíčkového oleje. Při této koncentraci je anestézie navozena do 4 minut a ryba se zotaví do 14 minut. Obecně doporučená koncentrace hřebíčkového oleje jako koncentrace navozující efektivní a bezpečnou anestézii je  $30 \text{ mg.l}^{-1}$  (Svoboda a Kolářová, 1999; Prince a Powell, 2000). Iversen a kol. (2003) sledovali potenciální schopnost hřebíčkového oleje snížit manipulační stres a jeho anestetické účinky u lososa *Salmo salar*. Nejistili žádné změny v koncentraci glukózy, ale anestetikum hřebíčkový olej zvýšilo významně průměrnou hladinu laktátu a kortizolu po anestézii nad klidovou úroveň. Ke stejným závěrům se přiklání také Wagner a kol. (2003), kteří sledovali změny v chemickém složení krve u pstruha duhového po vystavení ryb manipulačnímu stresu. U ryb exponovaných hřebíčkovému oleji se významně zvýšila hladina glukózy a laktátu v krvi. Ryby vystavené hřebíčkovému oleji nebo MS-222 měly významně nižší zvýšení hladiny kortizolu v plazmě než ryby v kontrolní skupině. Rovněž Velíšek a kol. (2004) zpozorovali významné zvýšení ( $p < 0,05$ ) glukózy a amoniaku v krevní plazmě ihned po 10 min. anestézie a významné snížení ( $p < 0,05$ ) aktivity aspartát aminotransferázy (AST). Ta byla významně snížena i za 24 hodin po anestézii. Zvýšené hladiny glukózy a amoniaku se vrátily do normálu do 24 hodin po skončení anestézie. Histologické vyšetření ryb po anestézii prokázalo výskyt ektázií na žaberních lístečcích, 24 hodin po anestézii byly ektázie prokázány ojediněle u 20% kusů. V ostatních tkáních (játra, slezina, kraniální a kaudální ledvina) nebyly zjištěny histopatologické změny. Výsledky ukázaly, že hřebíčkový olej v koncentraci  $30 \text{ mg.l}^{-1}$  se jeví pro pstruha duhového bezpečný.

Soto a Burhanuddin (1995) používali hřebíčkový olej o koncentraci 33 – 120  $\text{mg.l}^{-1}$  u chiméry hlavaté, *Siganus lienatus*. Nalezli efektivní dávku  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  pro anestézii. Ryba ztratí rovnováhu po 30 až 40 vteřinách a zotavení se dostaví kolem 3 min. Nízké dávky na úrovni 2 – 5 ppm vyvolávají útlum nervové soustavy, jež je dostatečný pro transport, zatímco dávky 40 – 60 ppm navozují účinnou chirurgickou anestézii po dobu 3 – 6 minut. Ve všech případech byly dávky a časy podobné, vzrůstaly exponenciálně s dobou expozice. Při krátké expozici bylo zotavení klidné, ale vždy mnohem delší než u MS-222. Opakovaná anestézie nemá škodlivé účinky a ochota přijímat podávanou potravu se rychle navrácí. Nedošlo k žádným úhynům a vedlejším účinkům na snížení rychlosti růstu.

Anestetické účinky eugenolu, derivátu hřebíčkového oleje, byly studovány u juvenilního pstruha duhového. Ryby umístěné v kontrolním akváriu vždy reagovaly na vnější

podněty rychlou změnou směru plavání a vyhýbaly se zdroji podnětů. Ryby vystavené koncentraci 1 ppm eugenolu projevovaly nepatrnou ztrátu schopnosti reagovat na vnější podněty po dobu prvních 6 - 8 hodin experimentu. S výjimkou totální ztráty reakce na podněty došlo při koncentraci 5 ppm eugenolu i ke ztrátě rovnováhy nebo stočení ryb. Ryby byly schopny znovu získat normální pozici pro plavání, ale o chvíli později se opět stočily. Stálé ztráty rovnováhy bylo dosaženo mezi 6 - 8 hodinami, všechny ryby vystavené roztokům o koncentracích 1, 2 a 5 ppm eugenolu přežily 96 h test a nebyla u nich zpozorována žádná mortalita ani abnormality v chování po dobu 12 - 14 dnů od skončení experimentu. V koncentracích 15 ppm a 30 ppm eugenolu ztratily ryby rovnováhu velmi rychle a přestaly aktivně plavat. Ryby v lázních obou těchto koncentrací ležely během jedné hodiny na dně testovacího akvária a rychlosti jejich ventilačních pohybů byly mnohem pomalejší než u kontrolní skupiny ryb. Úhyn ryb byl zaznamenán u koncentrace 30 ppm eugenolu do 2 hodin od začátku pokusu a do 8 hodin u koncentrace 15 ppm eugenolu. Mortalita ve výši 100 % byla zaznamenána pro obě použité koncentrace 15 ppm a 30 ppm eugenolu při 3 opakováních na konci 96 h LC50 testu (Keene a kol. 1998).

Vliv teploty vody na účinek hřebíčkového oleje a dosažení jednotlivých stupňů anestézie u sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) zjišťovala ve své diplomové práci Karvánková (2003). Z výsledků je patrné, že teplota má vliv na účinek anestetika. Při nižších teplotách bylo nutné použít vyšší dávku anestetika pro dosažení shodných efektů.

## 6.2. Hřebíčkový olej a jeho toxicita

Chmel (2002) posoudil anestetické účinky hřebíčkového oleje a stanovil akutní toxicitu hřebíčkového oleje pro kapra obecného, *Cyprinus carpio*. Stanovoval akutní toxicitu hřebíčkového oleje při 4 teplotách (10, 15, 20 a 25 °C), pokusy prováděl při 4 délkách expozice (5, 10, 20 a 40 minut) v lázni anestetika. Pro 10 min. expozici v roztoku hřebíčkového oleje při teplotách 15 °C, 20 °C a 25 °C určil pro testovací organizmus hodnoty LC50, pro teplotu 15 °C koncentraci 0,324 ml.l<sup>-1</sup>, pro teplotu 20 °C koncentraci 0,124 ml.l<sup>-1</sup> a pro teplotu 25 °C koncentraci 0,147 ml.l<sup>-1</sup>. Z dosažených výsledků v testech s hřebíčkovým olejem vyplývá, že hodnota LC50 se zvyšující se teplotou klesá, tím se vysvětluje skutečnost, že vyšší teplota (25 °C) je pro kapra obecného toxičtější než teplota nižší (10 °C). Při testování toxicity hřebíčkového oleje bylo zjištěno, že se zvyšující se délkou expozice kapra v roztocích hřebíčkového oleje klesá vliv teploty.

Velíšek a kol. (2004) zkoumal akutní toxicitu hřebíčkového oleje z hlediska jeho použití jako anestetika u pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*, a z hlediska rizika kontaminace vody použitou lázní s hřebíčkovým olejem. Hodnoty 96h LC50 jsou používány pro zhodnocení anestetika z hlediska nebezpečí kontaminace vody. Na základě testů akutní toxicity stanovili pro pstruha duhového při teplotě vody v průběhu testu 13,7 - 15 °C, pH 7,41 - 7,86 a stupni nasycení vody kyslíkem 76 - 96 % následující hodnoty: 96 hod. letální koncentraci 96h LC50 14,1 mg.l<sup>-1</sup>, 96hLC0,1 12,5 mg.l<sup>-1</sup>, 96hLC99,9 16,2 mg.l<sup>-1</sup>, 10minLC50 81,1 mg.l<sup>-1</sup>, 10minLC0,1 63,9 mg.l<sup>-1</sup>, 10minLC99,9 100,1 mg.l<sup>-1</sup>.

Teplota je jedním ze základních fyzikálně - chemických parametrů a bezprostředně ovlivňuje rychlost látkové výměny. Je všeobecně známo, že u poikilotermních organismů je teplota těla shodná s teplotou vody a má za následek změnu fyziologických procesů (oběh krve, trávení apod.), zvýšením teploty o 10°C se intenzita životních dějů (metabolismus, dýchání, růst apod.) zvýší 2 - 3krát.

Keene a kol. (1998) studovali anestetické účinky hřebíčkového oleje u juvenilního pstruha duhového *Oncorhynchus mykiss*. Akutní toxicita a účinky mnohonásobně opakovanému vystavení hřebíčkovému oleji v časovém rozmezí 8 - 96 hodin dosáhla při vyjádření v LC 50 hodnoty kolem 9 ppm (10 mg.l<sup>-1</sup>).

Nevýhoda hřebíčkového oleje spočívá v jeho relativně nízkém terapeutickém indexu, který vyjadřuje, kolikrát je hodnota LC50 vyšší než hodnota doporučená k anestézii. Optimální poměr mezi terapeutickými a toxickými koncentracemi je 1:4 a vyšší. Porovnáním mezi koncentracemi použitými pro 10 min. anestézii ryb (30 mg.l<sup>-1</sup>) a hodnotami 10LC50 (81,1 mg.l<sup>-1</sup>) byl zjištěn terapeutický index hřebíčkového oleje pro pstruha duhového 1:2,7 (Velíšek a kol. 2004).

Chmel (2002) uvádí hodnotu LC50 hřebíčkového oleje pro kapra obecného při 15 °C v rozmezí 0,065-0,506 ml.l<sup>-1</sup>, doporučená koncentrace k anestézii je 0,033 ml.l<sup>-1</sup>. To vysvětluje vliv délky expozice na toxicitu hřebíčkového oleje, že při kratší době anestézie (5 min.) je hřebíčkový olej méně toxický a bezpečnější pro ryby než při delší expoziční době (40 min.).

Byly zjištěny rozdíly při různé délce expozice. Čas pro střední letální koncentraci (LCT, při kterém 50 % testovaných ryb uhynulo) pro 50 mg.l<sup>-1</sup> dávky u pstruha duhového byla mezi 20 a 30 min. Následně byla hodnocena LC50 při 3 min. vystavení roztoku hřebíčkového oleje o koncentraci 250 mg.l<sup>-1</sup>. Hřebíčkový olej se na základě provedených podrobných pokusů jevil jako schopné anestetikum pro použití v akvakultuře. V koncentraci



25 mg.l<sup>-1</sup> poskytuje rychlou nehybnost, rychlé zotavení, není toxický pro sledované druhy ryb a je levnější, než jiná anestetika (Hikasa a kol. 1986; Anderson a kol. 1997).

### 6.3. Posouzení vlastností hřebíčkového oleje

Hřebíčkový olej je v Indonésii běžně dostupný a jeho použití je jednoduché. Protože se ryby v rámci druhů značně liší v požadované koncentraci chemikálie, která navodí daný stupeň narkózy, je nutno jejich toleranci k dané chemické látce a jejich dobu zotavení pro další druhy ještě otestovat používáním hřebíčkového oleje. HO je tradiční lék v Indonésii pro přímé externí použití, tak je pravděpodobné, že není škodlivý pro lidský organismus v zde používaných koncentracích. Vůně je příjemná a nedráždivá na rozdíl od 2-phenoxyetanolu a není nutno nosit rukavice. Růst ryb se nezdál být ovlivněn tak krátkou dobou, po kterou byla ryba vystavena roztoku s hřebíčkovým olejem. Dlouhodobé chronické účinky na ryby stejně tak jako na člověka nejsou dosud známy a je potřeba je prozkoumat. Protože je hřebíčkový olej látka rostlinného původu, lze očekávat, že se bude v přírodním prostředí rychle rozkládat (Soto a Burhanuddin, 1995).

Hřebíčkový olej vyhovuje sedmi z osmi kritérií používaných k definici ideálního anestetika. Jeho hlavní výhody spočívají v nízkých nákladech, minimálních regulačních požadavcích i ochranné lhůtě a jeho relativní bezpečnosti pro ryby i člověka (Keene a kol., 1998).

Takto definovali Marking a Meyers (1985) obecná kritéria pro ideální anestetikum: 1. Indukční čas by neměl přesáhnout 15 min., lépe méně než 3 min. 2. zotavovací čas po použití anestetika je kratší než 5 min. 3. Není toxický k rybám a má velký bezpečnostní faktor. 4. Jeho použití je snadné a není škodlivý pro lidi během normálního používání. 5. Nemá žádné trvalé účinky na fyziologické změny a chování ryb. 6. Je rychle vyloučen z organismu nebo metabolizován, nezanechává rezidua a nepotřebuje čas pro vyloučení. 7. Nemá žádné kumulativní účinky, ani nevznikají problémy při opětovné expozici. Posledním 8. kritériem je ekonomicky přijatelná cena. Jedním z hlavních kritérií ideálního anestetika je délka indukčního času.

Soto a Burhanuddin (1995) považují ve své studii o účincích hřebíčkového oleje na chiméru hlavatou první dvě kritéria za snadno splnitelná, protože indukční doba byla pro hřebíčkový olej méně než 1,5 min a obvykle méně než 3 min a doba odeznívání byla kratší než požadovaných 5 minut. Podle Velíška a kol. (2004) vyhovuje hřebíčkový olej sedmi

z osmi požadovaných kritérií pro ideální anestetikum. Jeho hlavní výhodou je nízká cena. Při používání hřebíčkového oleje je nicméně potřeba dodržovat obecné zásady pro bezpečnou manipulaci s chemickými látkami. Autoři uvádějí ze svých vlastních zkušeností ve špatně větraných místnostech nepříznivý vliv hřebíčkového oleje na zdravotní stav u citlivých osob, což se může projevit bolestmi hlavy, únavou, nevolností.

Na nově uváděné chemické látky a přípravky v akvakultuře a rybářství jsou kladeny přísné požadavky. Tyto chemické látky jsou podrobovány přísné kontrole, obzvláště vzhledem k jejich bezpečnosti použití a účinnosti. Anestetika patří mezi důležitá a všestranně používaná veterinární léčiva. Moderní přípravky pro anestézii ryb musí splňovat řadu všeobecných požadavků (Velíšek a kol., 2004). Griffiths (2000) zhodnotil hřebíčkový olej jako efektivní anestetikum pro ryby a bezpečné z hlediska ohrožení zdraví pracovníků. Je více žádaným anestetikem než široce používaný MS222, protože hřebíčkový olej může být použit v nižších koncentracích a ryba zanestetizovaná hřebíčkovým olejem nevyžaduje před vypuštěním do přirozeného prostředí nebo určená ke zpracování v potravinářském průmyslu ochrannou lhůtu.

Hřebíčkový olej se jeví jako nadějný, účinný a současně bezpečný anestetikum pro použití u ryb určených pro potravinářské zpracování. Přesto by se měl používat s opatrností a v nejnižších koncentracích nezbytných k navození narkózy do té doby, dokud nebudou provedeny další výzkumy týkající se účinků na fyziologické procesy v organismu.

Nepřesných výsledků při opakování pokusů mohlo být dosaženo vinou ovlivnění výsledků odlišnou velikostí jedinců, pohlavím nebo použitím jedinců různě odolných vůči anestetiku. V úvahu mohou také přicházet nedodržení přesné metodiky při rozmíchávání anestetika do vodní lázně.

## **6.4. Zhodnocení vlastních výsledků u kapra obecného**

### **6.4.1. Nástup anestézie**

#### **Vliv koncentrace**

Při nejvyšších použitých koncentracích anestetika bylo nástupu jednotlivých fází anestézie dosahováno v nejkratším čase. Naopak u nejnižších koncentrací bylo nástupu jednotlivých fází anestézie dosahováno v nejdelším čase. Tyto závislosti platí všeobecně pro

všechny tři velikostní kategorie ryb v rámci sledovaného rozsahu teplot. Podrobně jsou tyto vztahy u všech stupňů anestézie dokumentovány v tabulkách příloh 1.-56. U 2b fáze anestézie jsou uvedené závislosti znázorněny v grafech 5., 11. a 17. U nejvyšší použité koncentrace bylo v případě nemladší věkové a velikostní kategorie u teplot v rozpětí 15 – 25°C zjištěno dosažení nejvyššího stupně anestézie (3) u 30 – 70 % jedinců. Ve všech ostatních případech byl pozorován nástup pouze prvních třech fází anestézie (1, 2a a 2b).

### **Vliv teploty**

Se zvyšující se teplotou dochází k rychlejšímu nástupu jednotlivých fází anestézie. Podrobně jsou tyto vztahy u všech stupňů anestézie dokumentovány v tabulkách příloh 1.-56. U 2b fáze anestézie jsou uvedené závislosti znázorněny v grafech 5., 11. a 17. U třech nejvyšších použitých teplot (15 – 25 °C) při nejvyšší koncentraci anestetika bylo u nemladší věkové a velikostní kategorie ryb zjištěno dosažení nejvyššího stupně anestézie (3) u 30 – 70 % jedinců. Ve všech ostatních případech byl pozorován nástup pouze prvních třech fází anestézie (1, 2a a 2b).

### **Vliv velikosti ryb**

Dosažený čas nástupu jednotlivých fází anestézie u K1 a K2 se podstatě neliší. U ryb nejvyšší věkové a velikostní kategorie (K3) byly zaznamenány u všech použitých teplot i koncentrací pozdější nástupy jednotlivých fází anestézie. U nemladší věkové a velikostní kategorie ryb při použití nejvyšší koncentrace anestetika a teplot rozpětí 15 – 25°C bylo zjištěno dosažení nejvyššího stupně anestézie (3) u 30 – 70 % jedinců. Ve všech ostatních případech byl pozorován nástup pouze prvních třech fází anestézie (1, 2a a 2b).

## **6.4.2. Odezdnívání**

### **Vliv koncentrace**

Při nejvyšších použitých koncentracích anestetika bylo odeznívání jednotlivých fází anestézie dosahováno v nejdélším čase. Naopak u nejnižších koncentrací bylo odeznívání jednotlivých fází anestézie dosahováno v nejkratším čase. Tyto závislosti platí všeobecně pro všechny tři velikostní kategorie ryb v rámci sledovaného rozsahu teplot. Podrobně jsou tyto vztahy u všech stupňů anestézie dokumentovány v tabulkách příloh 1.-56. U fáze odeznívání anestézie jsou uvedené závislosti znázorněny v grafech 6., 12. a 18.

## **Vliv teploty**

Se zvyšující se teplotou dochází k rychlejšímu odeznívání jednotlivých fází anestézie a naopak se snižující se teplotou se prodlužuje i doba odeznívání jednotlivých fází. Podrobně jsou tyto vztahy u všech stupňů odeznívání dokumentovány v tabulkách příloh 1.-56. U fáze odeznívání anestézie jsou uvedené závislosti znázorněny v grafech 6., 12. a 18.

## **Vliv velikosti ryb**

Nebyl zjištěn téměř žádný vliv velikosti ryb na rychlost odeznívání anestézie.

## 7.Závěr

Veškeré pokusy a měření probíhaly od podzimu 2003 do léta 2005. Všechna měření a pokusy probíhaly v areálu VÚRH Vodňany a to na kapru obecném třech velikostních kategorií pěti teplotách a čtyřech koncentracích a z mnoha zjištěných výsledků a naměřených hodnot u testovaných ryb za určených teplot a koncentrací lze konstatovat, že při použití hřebíčkového oleje bylo odpovídajícího účinku (navození fáze 2b) dosaženo u všech testovaných jedinců kapra obecného a to vždy do hranice deseti minutové expozice v anestetické lázni.

Hřebíčkový olej vykazoval dobrého anestetického účinku zejména u vyšších teplot a vyšších koncentrací a to ve zkrácení doby nástupu fáze 2b a dále se vyšší teploty pozitivně projevovaly při zkrácení doby odeznívání anestetického účinku po přelovení do čisté a provzdušněné vody. Obecně lze konstatovat, že výše uvedené tvrzení je zásluhou rychlejšího metabolismu jedinců při vyšších teplotách prostředí. U nízkých teplot pod 15°C je výrazně prodloužena hlavně fáze odeznívání na dobu nástupu fáze 2b není vliv teploty výrazně průkazný záleží na vlivu koncentrace. Stanovené koncentrace jsou bezpečné, protože při jejich testování neuhynul žádný jedinec.

Na základě vlastních dosažených výsledků s přihlédnutím k výsledkům jiných autorů je možno pro využití v praxi doporučit zpřesnění dávkování anestetika hřebíčkový olej u kapra obecného. Všeobecně lze u tohoto druhu doporučit používání koncentrace 0,04 ml/l. Při vyšších teplotách (20 °C a výše) a u ryb do hmotnosti 0,1 kg a dostačuje koncentrace 0,03 ml/l. V těchto případech dochází k uvedení anestetizovaných ryb do fáze 2b obvykle po 429s - 90s expozice. Tento stupeň anestézie je dostačující pro obvyklé manipulace s rybami, kvůli nimž se anestézie provádí. Použití vyšších koncentrací anestetika je neodůvodněné a v případě překročení obvyklé maximální délky expozice 10 minut by se mohlo přiblížit k hranici toxicity. Naopak nižší koncentrace hřebíčkového oleje než 0,03 ml/l nejsou pro kapra, včetně menších velikostí, dostatečné k vyvolání anestézie v dostatečně krátkém časovém intervalu.

## 8. Seznam literatury

- ANDERSON W. G., McKINLEY R. S., COLA VECCHIA M., (1997): The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. North
- BELL G. R., (1964): A guide to the properties, characteristics and uses of some general anaesthetics for fish. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, 148: 4.
- BROWN, E. A. B., FRANKLIN, J. E., PRATT, E., TRAMS, E. G. (1972): Contributions to the pharmacology of quinaldine uptake and distribution in the shark and comparative studies. Comp. Biochem. Physiol., 42A: 223 – 231
- BUTTEWORTH A COMPANY (1978): Butterworth's Medical Dictionary, 2nd edn. Butterworth and Company, London.
- ČÍTEK, J., SVOBODOVÁ, Z., TESAŘÍK, J. (1997): *Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb*. Praha: Informatorium. 2218s.
- DEWHIRST, F. E., GOODSON, J. M. (1974): Prostaglandin synthetase inhibition by eugenol, guaiacol and other dental medicaments. Journal of Dental Research, 53: 104
- ENDO, T., OGIHIMA, K., TANAKA, H., OSHIMA, S. (1972): Studies on the anaesthetic effect of eugenol in some fresh water fishes. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 38: 761 – 767
- FERREIRA J. T., SMITH G. L., SCHOONBEE H. J., (1984): The uptake of the anaesthetic benzocaine-hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. J. Fish Biol., 25: 35 - 41.
- FISHER, I. U., DENGLER, H. J. (1990): Sensitive highperformance liquid chromatographic assay for the determination of eugenol in body fluids. Journal of Chromatography, 525: 369-377

- FISHER, I. U., von UNRUH, G. E., DENGLER, H. J. (1990): The metabolism of eugenol in max. *Xenobiotica*, 20: 209-222
- GILBERT, P. W., WOOD, F. G. (1957): Method of anaesthetizing sharks and rays safely and rapidly. *Science*, 126: 212
- GILDERHUS, P. A., MARKING, L. L. (1987): Comparative efficacy of 16 anaesthetic chemicals on rainbow trout. *North American Journal of Fish Management*, 7: 288-292
- GRIFFITHS, S. P. (2000): The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology*, 57 (6): 1453-1464.
- GRUSH, J., NOAKES, D. L. G., MOCCIA, R. D. (2004): The efficacy of clove oil as an anaesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *Zebrafish*, 1 (1): 46-53.
- GUIDOTTI, T. L. (1989): Critique of available studies on the toxicology of kretek smoke and its constituents by routes of entry involving the respiratory tract. *Archives of Toxicology*, 63: 7-12.
- HERNANI, T., TANGENDAJA, B. (1988): Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secarakromatografi. *Media Penelitian Sukamandi*, 6: 57-65.
- HIKASA, Y., TAKASA, K., OGASAWARA, T., OGASAWARA, S. (1986): Anaesthesia and recovery with tricaine methanesulphonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese journal of Veterinary Science*, 48: 341 – 351.
- HOUSTON, A. H., WOODS, J. R. (1976): Influence of temperature upon tricaine methane sulphonate uptake and induction of anaesthesia in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol*, 54C, 1 – 6
- HUNN, J.B., ALLEN, J. (1974): Movement of drugs across the gills of fishes. *Ann. Rev. Pharm.*, 14: 47 – 55

HUSSEIN, M. M. A., WADA, S., HATAI, K., YAMAMOTO, A. (2000): Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. *Journal of Aquatic Animal Health*, 12 (3): 224-229.

CHO, G. K., HEATH, D. D. (2002): Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 31(6): 537-546.

CHMEL M., (2002): Toxicita dvou různých anestetik (2-fenoxyethanol a hřebíčkový olej) pro kapra obecného. 50 s., Diplomová práce. Zemědělská fakulta v Českých Budějovicích.

IVERSEN, M., FINSTAD, B., MCKINLEY, R. S., ELIASSEN, R. A. (2003): The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S (TM) and Benzoak (R) as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, 221 (1-4): 549-566.

JOLLA, D. W., MAWDESLEY-THOMAS, L. E., BUCKE, D. 1972: Anaesthesia of fish. *Veterinary Record*, 91: 424-426

KAPLAN, H. M. (1969): Anaesthesia in amphibians and reptiles. *Fed. Proc*, 28:1541-1546.

KARAPMAR, M., AKTUG, S. E. (1987): Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol, and anethol. *International Journal of Food Microbiology*, 4: 161-166.

KARVÁNKOVÁ, J. (2003): *Vliv teploty na účinek dvou různých anestetik (2-fenoxyethanol a hřebíčkový olej) u sumečka afrického Clarias gariepinus*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 64s. Diplomová práce.

KAZUŃ, K., SIWICKI, A. K., GLABSKI, E. (1999): Badania nad przydatnoscia preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego ryb karpiovatych. IV. Krajowa konferencija hodowców karpia, Kiekrz , Wydawnictwo IRS Olsztyn, s. 57-60,



KEENE, J. L., NOAKES, D. L. G., MOCCIA, R. D., SOTO, C. G. (1998): The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29 (2): 89-101.

KILDEA, M. A., ALLAN, G. L., KEARNEY, R. E. (2004): Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-Sk from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 232: 265-277.

KLONTZ G. W., (1964): Anesthesia of fish. In: Proceedings of the symposium on Experimental Animal Anesthesiology, Brooks Air Force Base, 13: 14 -16.

KRÁL J., SVOBODOVÁ Z., (1990): Menocain: čs. Anestetikum pro ryby. Edice metodik, VÚRH Vodňany, č. 37, 7s.

KRAMER, R. E. (1985): Antioxidants in clove. *Journal American Oil Chemist's Society*, 62: 111-113.

LA VOIE, E. J., ADAMS, J. D., REINHARDT, J., RIVENSON, A., HOFFMANN, D. (1986): Toxicity studies on clove cigarette smoke and constituents of clove: determination of the LD50 of eugenol by intratracheal instillation in rats and hamsters. *Archives of Toxicology*, 59: 78-81.

LIU, E. H., GIBSON, D. M. (1977): Visualization of peroxidase isozymes with eugenol. A noncarcinogenic substrate. *Analytical Biochemistry*, 79: 597-601

MARKING, L. L., MEYER, F. P. (1985): Are better fish anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, 10 ( 6 ): 2 – 5.

MAURA, A., PINO, A., RICCI, R. (1989): Negative evidence in vivo of DNA-damaging, mutagenic and chromosomal effects of eugenol. *Mutation Research*, 227: 125-129

McFARLAND, W. N. (1959): A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. *Publ. Inst. Mar. Sci*, 6: 23-55

McFARLAND W.N., (1960): The use of anesthetics for the handling and transport of fishes. *California Fish and Game* 46: 407 - 431.

MOLEYAR, V., NARASIMHAM, P. (1992): Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 337-342.

MUENCH, B. (1958): Quinaldine, a new anaesthetic for fish. *Progressive Fish-Culturist*, 20: 42-44

MUNDAY, P. L., WILSON, S. K.(1997): Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *Journal of Fish Biology*, 51 (5): 931-938.

NAGABABU, E., LAKSHMAIAH, N.(1992): Inhibitory effect of eugenol on non-enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. *Biochemical Pharmacology*, 43: 2393-2400.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) (1985): Guide for the care and use of laboratory animals. NIH Publication, 85-23, Bethesda, MD.

PHILLIPS, D. H. (1990): Further evidence that eugenol does not bind to DNA in vivo. *Mutation Research*, 245: 23-26

PIRHONEN, J., SCHRECK, C. B. (2003): Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO<sub>2</sub> on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 220 (1-4): 507-514.

PRINCE, A., POWELL, C. (2000): Clove oil as an anaesthetic for invasive field procedures on adult rainbow trout. *Journal of Fisheries Management*, 20: 1029-1032.

PULLA REDDY, A. CH., LOKESH, B. R. (1992): Studies on spice principles antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 111: 117-124.

RAJAKUMAR, D. V., RAO, M. N. A. (1993): Dehydrozingerone and isoeugenol as inhibitors of lipid peroxidation and as free radical scavengers. *Biochemical Pharmacology*, 46: 2067-2072.

RANDALL D. J., (1962): Effect of anaesthetic on the heart and respiration of a teleost fish. *Nature*, 195:506.

ROSS, L. G., ROSS, B. (1999): Anaesthetic and Sedative techniques for aquatic animals. Institute of aquaculture University of Stirling, 58 -155

SEKIZAWA, Y., KIKUCHI, T., SUZUKI, A. (1971): Electrophysiological surveys on the anaesthetic properties of 2-amino-4-phenylthiazole upon carp ( *Ciprinus carpio*). *Japanese Journal of Ichthyology*, 18 (3): 128-138

SMALL, B. C. (2003): Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 218 (1-4): 177-185.

SOTO, C. G., BURHANUDDIN, S. (1995): Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136 (1-2): 149-152

SUMMERFELT RC., SMITH L. S., (1990): Anaesthesia surgery, and related techniques. s 213 - 272: In C. B. Scbreck and P. B. Moyle, editors. *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

SVOBODA, M., KOLÁŘOVÁ, J. (1999): *Přehled anestetik používaných v chovech ryb*. Vodňany: VÚRH JU, s. 49 - 72.

TAYLOR, P. W., ROBERTS, S. D. (1999): Clove oil: An alternative anaesthetic for aquaculture. *North American Journal Aquaculture*, 61: 150 -155

THOMPSON, D., ELING, T. (1989): Mechanism of inhibition of prostaglandin H synthase by eugenol and other phenolic peroxidase substrates. *Molecular Pharmacology*, 36: 809-817

TRZEBIATOWSKI R., STEPANOWSKA K., SIWICKI AK., KAZUN K., (1996): -Badania nad przydatnością preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego sumy europejskiego. *Komunikaty Rybackie*, 1: 14-18.

TYTLER P., HAWKINS AD., (1981): Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: *Aquarium Systems* (Edited by AD. Hawkins). Academic Press, London: 20-23.

USFDA (United States Food and Drug Administration) (1978): Scientific literature review of eugenol and related substances in flavor usage, p. 1. Flavor Extract Manufacturers Association of the USA, Washington, D. C.

VELÍŠEK, J., SVOBODOVÁ, Z., PIAČKOVÁ, V. (2004): Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Brno: *Acta Vet.*,

WAGNER, E., ARNDT, R., HILTON, B. (2002): Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture*, 211 (1-4): 353-366.

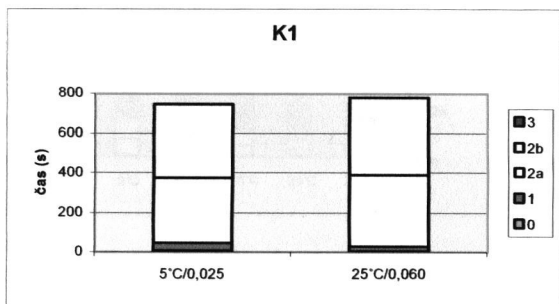
WARREN, R. G. (1983): *Small Animal Anaesthesia*. Mosby. St Louis. Mo.

WOODY, C. A., NELSON, J., RAMSTAD, K. (2002): Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. *Journal of Fish Biology*, 60 (2): 340-347.

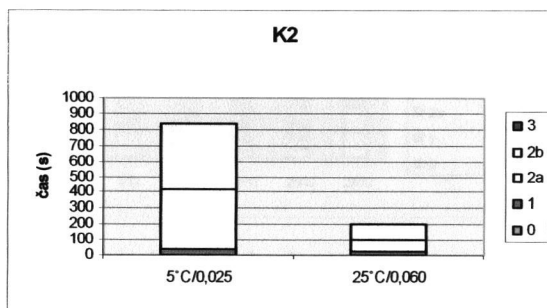
ZHENG, G., KENNEY, P. M., LAM, L. K. T. (1992): Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Natural Products*, 55: 999-1003

## 9. Přílohy

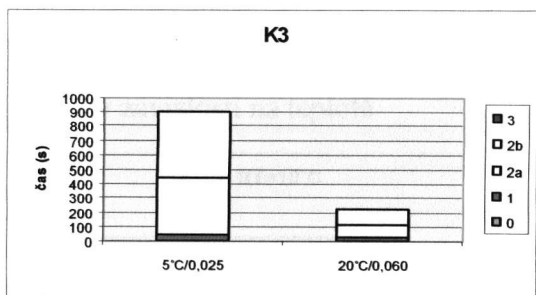
Graf 1. Porovnání vlivu nejvyšší a nejnižší koncentrace anestetika a teploty



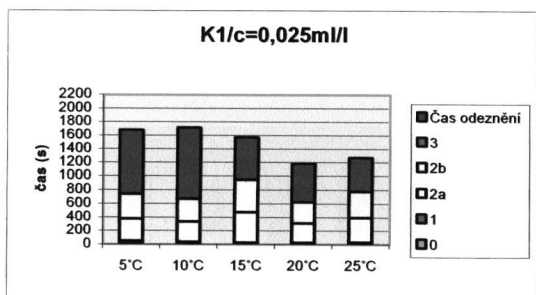
Graf 2. Porovnání vlivu nejvyšší a nejnižší koncentrace anestetika a teploty



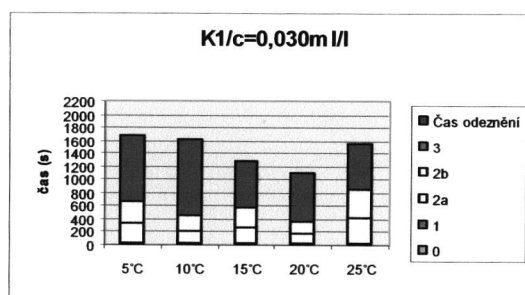
Graf 3. Porovnání vlivu nejvyšší a nejnižší koncentrace anestetika a teploty



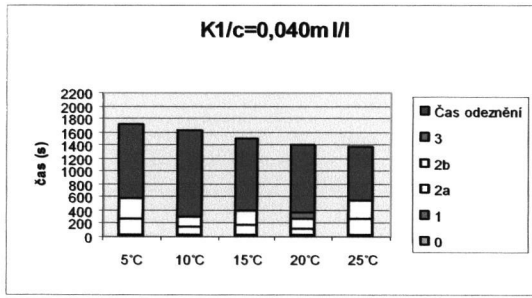
Graf 4.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



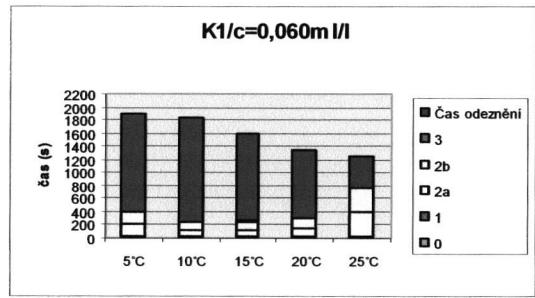
Graf 5.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



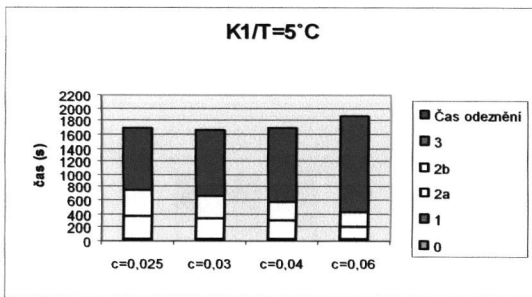
Graf 6.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



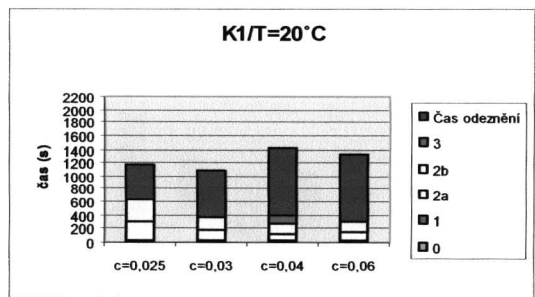
Graf 7.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



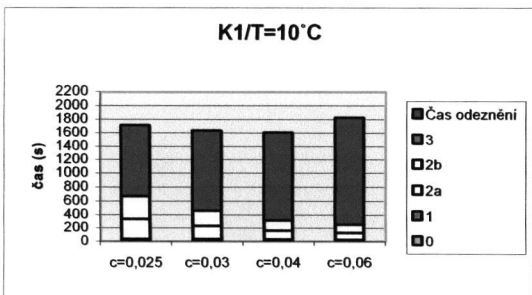
Graf 8.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



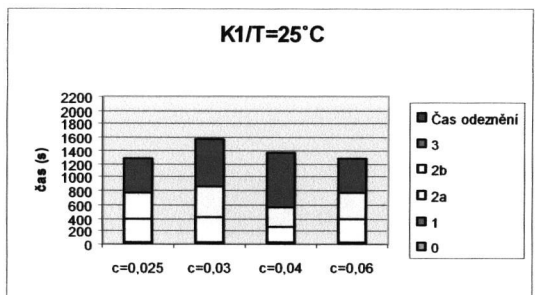
Graf 11.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



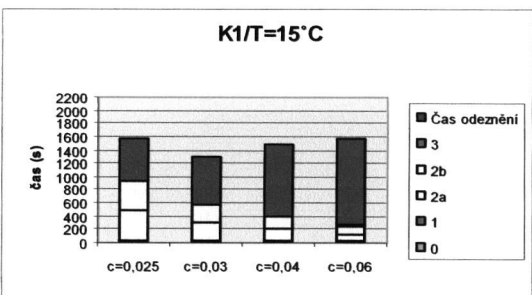
Graf 9.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



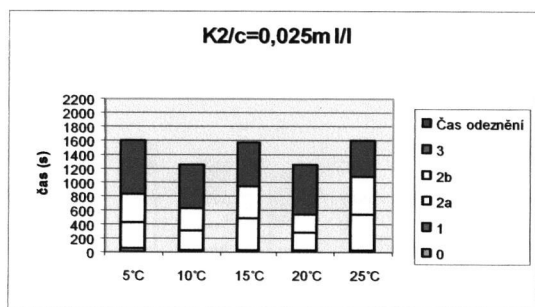
Graf 12.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



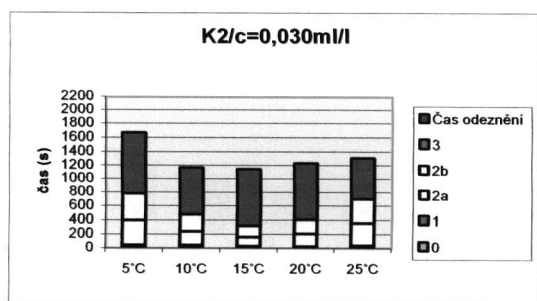
Graf 10.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



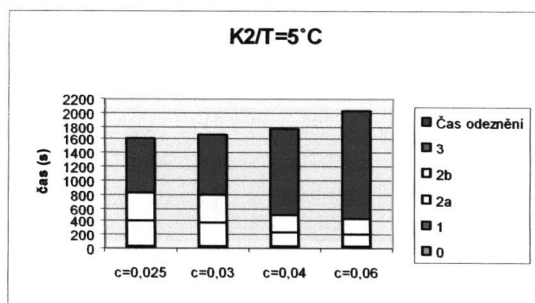
Graf 13.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



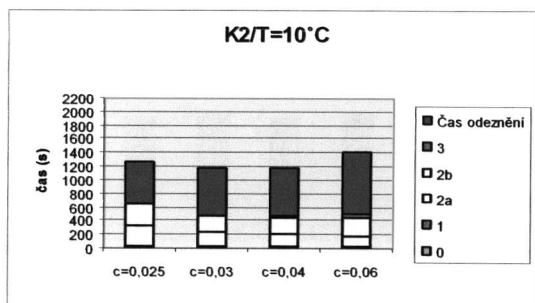
Graf 14.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



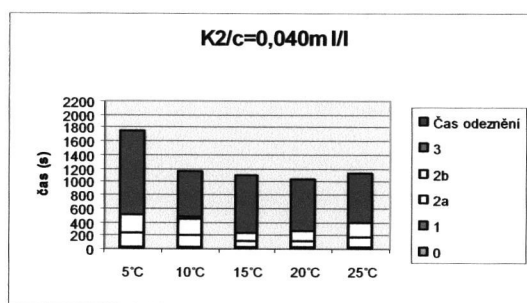
Graf 17.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



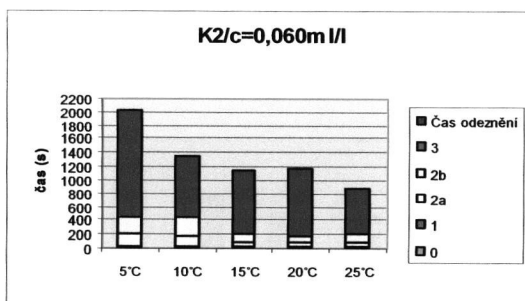
Graf 18.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



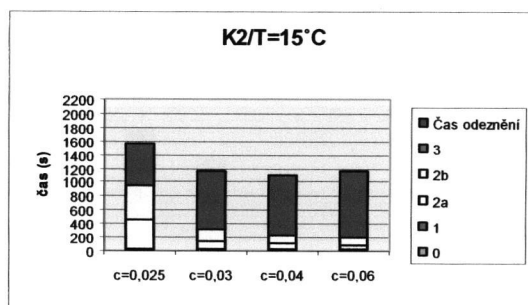
Graf 15.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



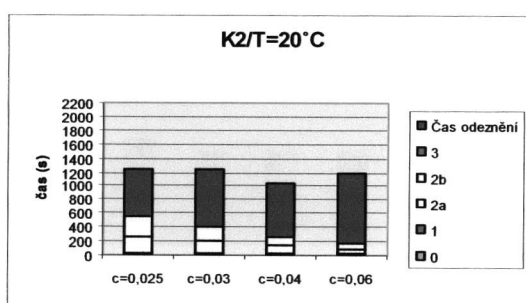
Graf 16.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



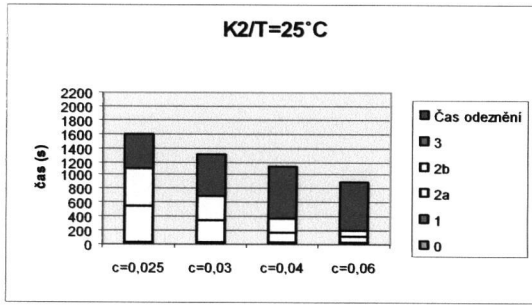
Graf 19.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



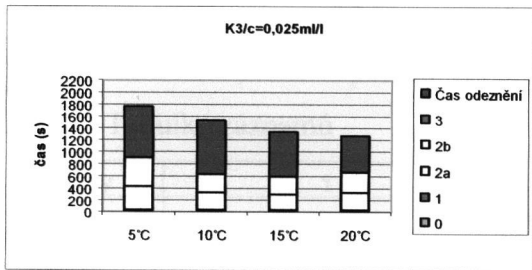
Graf 20.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



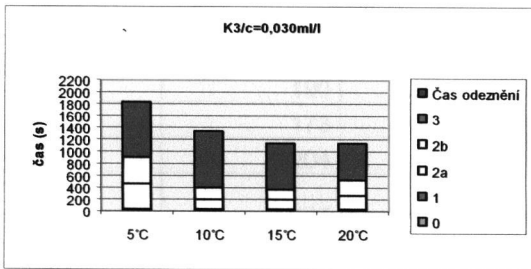
Graf 21.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



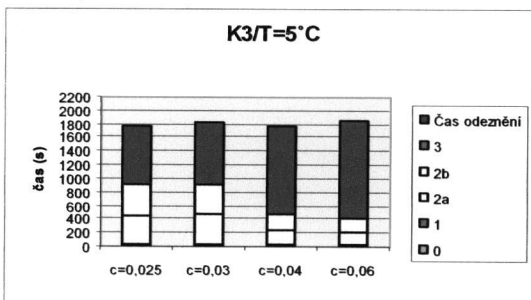
Graf 22.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



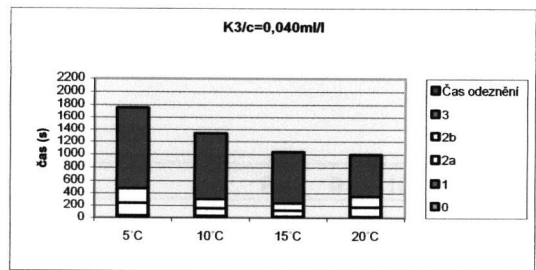
Graf 23.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



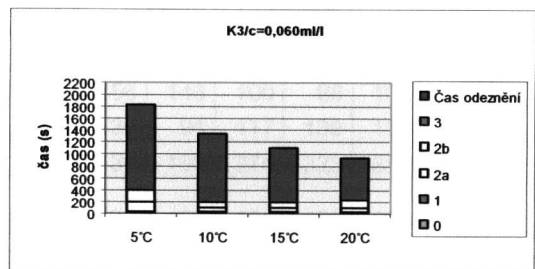
Graf 26.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



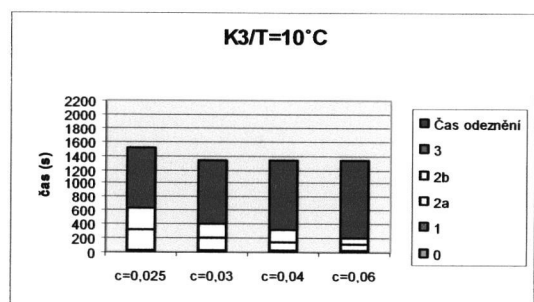
Graf 24.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci



Graf 25.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na koncentraci

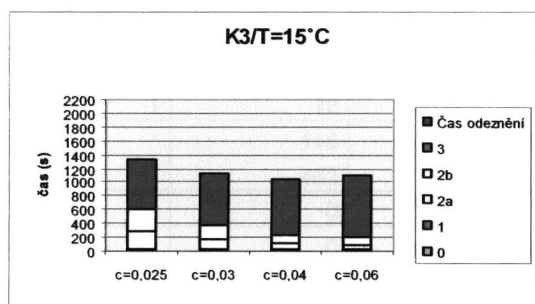


Graf 27.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě

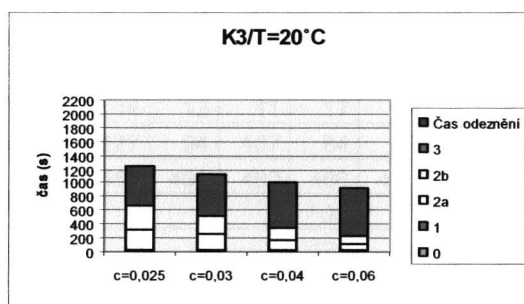




Graf 28.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



Graf 29.: Průměrné hodnoty průběhu pokusu v závislosti na teplotě



Tabulky záznamu průběhu pokusu pro kategorii ryby K1

Tab. 1.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	3	5	7	7	6	6	7	7	4	4	5,6	1,28	
1	17	20	23	23	24	29	28	23	29	31	24,7	3,64	
2a	396	520	0	0	365	424	455	467	477	502	360,6	144,24	
2b	184	55	570	570	205	141	110	103	90	63	209,1	144,36	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	190	158	0	0	123	156	146	100	96	108	107,7	46,96	
1	173	52	277	250	203	130	94	117	139	158	159,3	53,16	
0	204	306	191	263	154	137	198	274	223	259	220,9	44,1	
Čas odeznění	567	516	468	513	480	423	438	491	458	525	487,9	34,5	
CDT	14	11,5	15	12,5	12,5	13,5	13	15,5	14	15	13,65	1,05	
DT	12	9	12,5	10,5	10	11	11	13	11,5	12,5	11,3	1	
Hmotnost	44	20	44	24	30	33	26	54	44	46	36,5	9,9	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,025 ml/l												
					T:	25°C							

Tab.2.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2	4	4	2	2	3	3	2,6	0,72
1	18	18	16	15	16	14	13	11	17	17	15,5	1,8
2a	118	133	108	141	100	127	94	107	84	99	111,1	14,92
2b	462	387	432	442	439	455	491	480	466	481	453,5	22,8
3	0	60	42	0	41	0	0	0	30	0	17,3	20,76
2b	0	186	129	0	150	0	0	0	120	0	58,5	70,2
2a	1795	1584	900	660	665	730	546	600	420	398	829,8	357,92
1	40	30	31	33	28	18	73	38	31	22	34,4	9,56
0	200	253	280	447	447	473	356	377	389	432	365,4	74,52
Čas odeznění	2035	2053	1340	1140	1290	1221	975	1015	960	852	1288,1	313,12
CDT	17,3	14,1	12,5	15	12	12	13,5	14	15	18	14,34	1,588
DT	14,1	11	10,2	12,3	10	9,8	11	12	12,5	14,5	11,74	1,34
Hmotnost	72	33	23	57	20	25	34	47	45	76	43,2	16,2
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l				T:	25°C						

Tab. 3.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	1	2	2	4	3	1	1	2,2	0,84
1	27	27	23	24	23	18	15	20	24	24	22,5	2,9
2a	315	388	215	210	225	280	207	222	215	257	253,4	45,28
2b	255	182	360	365	350	300	374	355	360	318	321,9	46,52
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	338	383	453	360	540	315	498	425	334	388	403,4	60,48
1	118	153	13	20	26	67	21	148	334	88	98,8	71,56
0	480	414	314	310	310	366	299	272	107	352	322,4	64,48
Čas odeznění	936	950	780	690	876	748	818	845	775	828	824,6	62,4
CDT	13,8	13,5	11,5	15	13	18	14	15	11,5	11,5	13,68	1,48
DT	11,3	11	9	12,5	10,5	15	11,5	12,5	9,2	9,5	11,2	1,36
Hmotnost	34	26	17	43	24	83	32	47	19	25	35	13,6
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	25°C						

Tab. 4.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	5	5	6	8	3	3	4	4	5	6	4,9	1,12
1	20	20	17	15	22	17	23	21	15	17	18,7	2,5
2a	388	413	370	410	417	460	423	438	319	417	405,5	27,9
2b	187	162	207	167	158	120	150	137	261	160	170,9	28,46
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	158	235	225	237	238	260	195	226	180	170	212,4	29,32
1	268	294	153	246	132	135	243	120	120	274	198,5	66,5
0	354	339	240	202	340	404	270	261	320	235	296,5	54,9
Čas odeznění	780	868	618	685	710	799	708	607	620	679	707,4	65,6
CDT	12	12	11	12	13,5	15	13,5	14	13	15,5	13,15	1,15
DT	10	10,5	9	9,5	11	12	11	11,5	10,5	13	10,8	0,9
Hmotnost	26	26	20	26	27	47	28	33	28	50	31,1	7,34
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	25°C						

Tab. 5.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	4	4	3	3	2	2	3	3	3	3	3	0,4
1	21	21	27	27	18	18	17	22	27	22	22	3
2a	285	275	300	320	300	280	265	270	260	300	285,5	15,6
2b	290	300	270	250	280	300	315	305	310	275	289,5	16,6
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	170	190	150	200	190	210	130	205	255	190	189	23,4
1	110	20	120	180	105	95	200	135	70	110	114,5	35,4
0	210	180	350	290	255	275	325	220	265	250	262	39
Čas odeznění	490	390	620	670	550	580	655	560	590	550	565,5	57,5
CDT	13,5	13,5	15,5	14	12	12	15,5	12,5	12	12,5	13,3	1,1
DT	11,5	11	12,5	11,5	10	10	12,5	10,5	10	10,5	11	0,8
Hmotnost	38	31	51	38	22	23	46	30	23	30	33,2	8,04
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	20°C						

Tab. 6.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	5	4	2	2	4	4	4	4	2	5	3,6	0,96		
1	25	31	28	28	28	28	21	21	23	25	25,8	2,8		
2a	130	115	135	145	108	138	110	123	105	113	122,2	12		
2b	440	450	435	425	460	430	465	452	470	457	448,4	12,72		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2a	492	597	445	570	468	526	585	528	399	358	496,8	64,4		
1	168	255	77	126	26	309	70	45	76	277	142,9	87,48		
0	393	336	423	349	416	255	490	522	423	335	394,2	60,6		
Čas odeznění	1053	1188	945	1045	910	1090	1145	1095	898	970	1033,9	82,52		
CDT	13	13	11	12	14	13	12	11,5	13	12	12,45	0,75		
DT	10,5	11	9	9,5	11,5	10,5	10	9	10,5	9,5	10,1	0,7		
Hmotnost	30	33	16	23	36	30	26	23	31	25	27,3	4,7		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,060 ml/l													
					T:	20°C								

Tab. 7.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	2	2	3	3	2	2	4	4	4	4	3	0,8		
1	23	23	22	27	23	23	26	26	21	21	23,5	1,7		
2a	130	200	140	130	165	155	135	130	175	195	155,5	22,6		
2b	445	375	435	440	410	420	435	440	400	380	418	21,4		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2a	310	260	260	250	235	250	230	270	280	275	262	17,4		
1	150	120	70	150	100	115	145	135	90	145	122	23		
0	270	400	400	310	400	415	280	295	345	330	344,5	47,5		
Čas odeznění	730	780	730	710	735	780	655	700	715	750	728,5	26,8		
CDT	12	15,5	15	12	12	12	14	13	15,5	17	13,8	1,6		
DT	10	12,5	12,5	10	10	10	11,5	10,5	12,5	14	11,35	1,25		
Hmotnost	26	52	48	28	21	29	41	28	58	68	39,9	13,5		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,030 ml/l													
					T:	20°C								

Tab. 8.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2	3	3	2	1	2	2	2,1	0,36
1	18	18	23	18	22	22	20	19	23	20	20,3	1,76
2a	95	90	75	75	85	105	83	95	85	100	88,8	8,2
2b	335	465	445	485	490	470	350	340	410	478	426,8	54,44
3	150	25	55	20	0	0	145	145	410	0	95	94
2b	110	190	84	169	0	0	105	145	73	0	87,6	56,2
2a	160	408	396	597	835	590	243	510	577	605	492,1	152,28
1	66	34	20	74	65	80	51	173	75	35	67,3	26,56
0	609	403	470	208	275	410	496	312	340	355	387,8	89,8
Čas odeznění	945	1035	970	1048	1175	1080	895	1140	1065	995	1034,8	66,84
CDT	11,5	14	12	13	17	11,5	12	12	11,5	15	12,95	1,44
DT	9,5	11,5	9,5	10,5	14	9,5	9,5	9,5	9,5	12,5	10,55	1,27
Hmotnost	29	36	24	28	69	22	26	21	20	49	32,4	11,36
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	20°C						

Tab. 9.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	4	5	5	3	3	2	2	4	4	3,4	1
1	23	21	15	15	22	22	18	18	18	21	19,3	2,5
2a	485	475	415	425	425	460	470	490	408	465	451,8	26,84
2b	90	100	165	155	150	115	110	90	170	110	125,5	27,6
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	165	150	210	190	210	240	185	205	185	170	191	20,2
1	70	70	50	85	80	70	55	60	20	50	61	14
0	385	335	350	375	375	365	345	350	390	415	368,5	19,5
Čas odeznění	620	555	610	650	665	675	585	615	595	635	620,5	28,6
CDT	13	11	12	11	11	13	12	12	13	12	12	0,6
DT	10,5	9	10,5	9,5	9	10,5	9,5	9,5	10,5	10	9,85	0,55
Hmotnost	31	20	25	25	23	30	26	24	34	30	26,8	3,56
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	15°C						

Tab. 10.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	5	5	2	2	3	3	3	0,8
1	27	27	23	28	17	17	18	18	17	17	20,9	4,28
2a	235	310	210	285	268	278	250	255	275	290	265,6	22,48
2b	335	260	365	285	310	300	330	325	305	290	310,5	22,6
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	290	235	215	275	250	260	265	290	250	290	262	20
1	60	175	155	75	125	110	125	80	100	40	104,5	33,5
0	260	345	305	350	295	325	340	390	370	415	339,5	34,6
Čas odeznění	610	755	675	700	670	695	730	760	720	745	706	36
CDT	13	14	14	15	12	12	13	13	11,5	11,5	12,9	0,92
DT	10,5	11,5	11,5	12,5	10	9,5	10,5	10,5	9,5	9,5	10,55	0,77
Hmotnost	31	46	39	52	27	22	30	31	24	23	32,5	7,9
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	15°C						

Tab. 11.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1,6	0,48
1	23	28	18	18	29	29	32	32	28	28	26,5	4,1
2a	175	195	170	185	135	150	157	187	155	170	167,9	14,92
2b	400	375	410	395	435	420	410	380	415	400	404	14
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	470	630	480	590	550	565	490	600	585	610	557	47,6
1	115	130	190	170	130	65	185	60	135	125	130,5	31,6
0	543	375	390	350	450	435	395	345	370	380	403,3	43,62
Čas odeznění	1128	1135	1060	1110	1130	1065	1070	1005	1090	1115	1090,8	32,8
CDT	12	12	14	12	12	13	12	13	13	12	12,5	0,6
DT	9,5	9,5	11,5	9,5	10	10,5	10	11	10,5	10	10,2	0,54
Hmotnost	25	23	40	26	21	32	27	30	25	28	27,7	3,84
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	15°C						

Tab. 12.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	3	3	2	2	3	3	1	1	3	3	2,4	0,72		
1	22	22	28	28	27	27	24	24	27	27	25,6	2,08		
2a	85	75	75	75	95	100	95	95	105	95	89,5	9,6		
2b	460	500	395	472	475	470	480	480	465	475	467,2	16,32		
3	30	0	100	23	0	0	0	0	0	0	15,3	21,42		
2b	180	0	90	230	0	0	0	0	0	0	50	70		
2a	870	950	560	620	610	810	750	805	830	790	759,5	99,6		
1	20	95	130	230	185	80	135	150	100	95	122	44		
0	245	350	290	290	375	410	470	445	450	485	381	71		
Čas odeznění	1315	1395	1070	1370	1170	1300	1355	1400	1380	1370	1312,5	79,5		
CDT	14	13	11,5	14	13,5	13,5	15	14	14	13,5	13,6	0,6		
DT	11,5	10,5	9,5	11,5	11	11	12,5	12	11,5	11	11,2	0,6		
Hmotnost	41	31	23	44	33	31	55	47	42	41	38,8	7,44		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,060 ml/l													
					T:	15°C								

Tab. 13.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	4	4	2	4	4	4	3	3	5	5	3,8	0,68		
1	24	26	28	26	31	36	27	37	30	28	29,3	3,36		
2a	287	315	310	360	265	250	350	305	250	317	300,9	30,32		
2b	285	255	260	210	300	310	220	255	315	250	266	29,2		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2a	345	410	290	350	330	315	230	335	410	350	336,5	36,5		
1	245	265	240	280	120	315	420	380	295	360	292	62		
0	400	415	505	480	500	445	325	380	330	410	419	50,8		
Čas odeznění	990	1090	1035	1110	950	1075	975	1095	1035	1120	1047,5	50,5		
CDT	12,5	13	15	13	14	15	11	12	14	17	13,65	1,35		
DT	10,5	10,5	12	11	11	12,5	9	10	11,5	14	11,2	1,04		
Hmotnost	196	142	139	88	70	101	101	85	88	88	109,8	29,52		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,025 ml/l													
					T:	10°C								

Tab. 14.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	5	5	2	2	2	2	2,8	0,96
1	22	22	28	28	25	25	33	33	33	33	28,2	3,84
2a	190	205	195	220	195	230	175	230	155	180	197,5	19
2b	385	370	375	350	375	340	390	335	410	385	371,5	18,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	435	350	530	495	535	560	535	590	585	490	510,5	54,4
1	220	45	240	180	210	220	240	185	185	185	191	35
0	590	625	425	505	465	470	395	415	405	435	473	60,2
Čas odeznění	1245	1020	1195	1180	1210	1250	1170	1190	1175	1110	1174,5	44,7
CDT	14	11,5	14	12	12	13	12	12	14	13	12,75	0,85
DT	11,5	9,5	11	10	9,5	10,5	10	9,5	11	10,5	10,3	0,6
Hmotnost	40	22	36	24	30	30	28	27	47	32	31,6	5,72
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	10°C						

Tab. 15.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	2	2	2	2	4	4	2,6	0,72
1	22	22	28	28	26	26	33	28	31	31	27,5	2,8
2a	120	140	120	125	107	122	140	185	90	125	127,4	16,56
2b	455	435	450	445	465	450	425	385	475	440	442,5	17
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	705	670	750	675	700	595	700	615	655	740	680,5	38,5
1	90	210	140	195	135	210	155	115	110	90	145	38
0	555	400	300	385	500	505	495	550	505	475	467	63,2
Čas odeznění	1350	1280	1190	1255	1335	1310	1350	1280	1270	1305	1292,5	37,5
CDT	16	13	12	13	13	12	14	17	13	13	13,6	1,24
DT	13	10,5	10	10,5	11,5	10	11,5	14,5	10,5	10,5	11,25	1,1
Hmotnost	64	33	24	34	39	27	39	76	33	30	39,9	12,04
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	10°C						



Tab. 16.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	3	3	2	2	2	2	2,4	0,48
1	22	22	23	28	22	22	18	18	23	23	22,1	1,72
2a	105	110	75	100	90	125	105	115	85	105	101,5	11,2
2b	470	465	500	470	485	450	475	465	490	470	474	10,8
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	830	810	810	990	930	910	825	830	840	910	868,5	53,2
1	115	165	150	75	185	160	95	115	150	145	135,5	28,4
0	570	635	610	545	520	500	610	640	560	520	571	42,2
Čas odeznění	1515	1610	1570	1610	1635	1570	1530	1585	1550	1575	1575	28
CDT	14,5	13,5	13	13	12	14	12	13	12,5	12,5	13	0,6
DT	12	11	10,5	10,5	9,5	12	10	11	10,5	10,5	10,75	0,6
Hmotnost	48	40	36	34	28	59	28	42	33	31	37,9	7,48
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l				T:	10°C						

Tab. 17.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	7	7	4	4	8	8	8	10	7	7	7	1,2
1	33	28	41	41	42	47	32	35	38	43	38	4,8
2a	370	385	395	390	280	335	290	285	255	295	328	47
2b	190	180	160	165	270	210	270	270	300	255	227	46
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	290	160	230	275	390	530	460	310	365	310	332	83,4
1	325	335	260	260	165	100	50	220	105	200	202	78
0	395	565	340	435	295	285	400	420	385	420	394	54,2
Čas odeznění	1010	1060	830	970	850	915	910	950	855	930	928	56
CDT	14	15	14	14	13	13	15	13	14	16	14,1	0,74
DT	11,5	12,5	11,5	11,5	11	11	11,5	10,5	11	13	11,5	0,5
Hmotnost	44	55	51	52	35	37	51	28	45	70	46,8	9
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	5°C						

Tab. 18.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	4	4	3	3	5	5	4	4	5	5	4,2	0,64
1	31	31	32	37	35	35	41	36	40	40	35,8	3
2a	255	265	280	280	335	355	285	305	245	325	293	29,6
2b	310	300	285	280	225	205	270	255	310	230	267	30,6
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	410	510	525	440	650	540	465	520	530	660	525	56
1	280	260	390	350	175	270	70	190	260	115	236	78,8
0	260	205	205	280	235	200	355	270	160	280	245	44
Čas odeznění	950	975	1120	1070	1060	1010	890	980	950	1055	1006	57
CDT	14	14	18	18	14	14	14	14	15	14	14,9	1,26
DT	11,5	11,5	15	15	11,5	11,5	11,5	11	12	11	12,15	1,14
Hmotnost	42	42	95	87	47	48	45	41	48	39	53,4	15,04
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	5°C						

Tab. 19.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	4	4	5	5	3	3	6	6	8	8	5,2	1,44
1	21	26	30	35	32	32	34	39	22	27	29,8	4,64
2a	210	255	275	275	250	265	235	285	220	275	254,5	20,6
2b	365	315	290	285	315	300	325	270	350	290	310,5	23,5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	690	750	645	750	530	690	710	740	800	750	705,5	53,4
1	135	100	90	200	45	130	120	190	75	180	126,5	40,5
0	275	300	320	245	395	290	300	255	255	250	288,5	32,5
Čas odeznění	1100	1150	1055	1195	970	1110	1130	1185	1130	1180	1120,5	49,4
CDT	14	15	12	12	13	13	13	14	14	13	13,3	0,76
DT	11,5	12,5	10,5	10	11	10,5	10,5	11	11,5	11	11	0,5
Hmotnost	40	50	30	28	35	28	33	34	39	37	35,4	4,88
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	5°C						

Tab. 20.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	5	5	3	3	3	3	3	3	4	4	3,6	0,72	
1	25	25	17	22	17	17	12	17	11	16	17,9	3,66	
2a	150	200	145	190	170	190	185	195	175	230	183	18,4	
2b	420	370	435	385	410	390	400	385	410	350	395,5	19,5	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	900	930	1200	1050	1010	1060	1005	1035	1120	970	1028	65	
1	210	140	135	105	180	215	85	65	50	125	131	45	
0	380	350	245	315	320	275	290	350	285	335	314,5	32,6	
Čas odeznění	1490	1420	1580	1470	1510	1550	1380	1450	1455	1430	1473,5	47,2	
CDT	12,5	15	13	16	13	15	15	13	13	14	13,95	1,05	
DT	10	12	11	13	11	12	12	11	11	11,5	11,45	0,65	
Hmotnost	31	53	39	65	31	51	47	38	36	40	43,1	8,72	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,060 ml/l												
					T:	5°C							

Tabulky záznamu průběhu pokusu pro kategorii ryby K2

Tab. 21.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	2	2	5	5	2	2	5	4	1	1	2,9	1,48	
1	33	33	30	35	36	36	35	35	29	29	33,1	2,3	
2a	565	565	515	535	477	522	440	455	515	540	512,9	33,34	
2b	0	0	50	25	85	40	120	105	55	30	51	32,2	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	0	0	120	105	90	115	85	110	60	70	75,5	34,4	
1	240	310	230	275	185	175	155	200	140	215	212,5	41,5	
0	250	235	190	205	190	220	230	240	220	205	218,5	16,8	
Čas odeznění	490	545	540	585	465	510	470	550	420	490	506,5	39,5	
CDT	34	32	29	28	31	28	30	33	32	27	30,4	2	
DT	28	27	25	24	26	23	25	28	26	23	25,5	1,5	
Hmotnost	633	527	394	357	438	336	416	564	504	333	450,2	85,44	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,025 ml/l												
					T:	25°C							

Tab. 22.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1,2	0,32
1	24	24	18	18	24	24	19	19	16	16	20,2	3,04
2a	62	105	65	65	65	120	75	75	81	93	80,6	15,32
2b	513	470	515	515	510	455	505	505	502	490	498	15,8
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	310	415	490	610	370	380	385	605	540	345	445	93
1	15	25	110	120	30	35	20	5	35	95	49	35,6
0	275	165	195	115	150	165	250	230	145	175	186,5	40,8
Čas odeznění	600	605	795	845	550	580	655	840	720	615	680,5	95,6
CDT	31	31	30	28	26,5	26,5	29	27	27	28	28,4	1,48
DT	26	26	25	23,5	22,5	22,5	25	22,5	22	23	23,8	1,36
Hmotnost	505	465	442	371	341	328	360	336	345	369	386,2	50,68
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l				T:	25°C						

Tab. 23.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1,6	0,48
1	34	28	33	33	28	28	39	39	29	29	32	3,6
2a	174	195	130	145	135	185	140	175	120	130	152,9	23,48
2b	375	285	335	315	380	310	325	310	360	290	328,5	27,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	300	455	370	365	400	420	425	335	415	340	382,5	40,5
1	75	90	20	80	135	100	10	90	80	80	76	24,6
0	290	230	345	245	260	255	240	265	220	230	258	25,6
Čas odeznění	665	775	735	690	795	775	675	690	715	650	716,5	42,8
CDT	34	34	30	28	28	27	32	31	30	27	30,1	2,12
DT	28	28	25	24	23	22	26	25	25	22,5	24,85	1,58
Hmotnost	560	582	378	366	390	356	609	520	438	321	452	92,6
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	25°C						

Tab. 24.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1,4	0,48
1	45	39	39	35	38	33	33	33	29	29	35,3	3,96
2a	350	430	355	405	320	350	235	245	210	255	315,5	63,4
2b	204	130	205	159	240	215	330	320	360	315	247,8	66,76
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	390	190	275	290	250	210	250	245	305	275	268	39
1	75	165	65	70	110	85	140	185	115	115	112,5	31,5
0	235	225	235	255	250	260	185	255	170	160	223	30,8
Čas odeznění	700	580	575	615	610	555	575	685	590	550	603,5	39,2
CDT	28	27	27	28	28	28	29	31	30	31	28,7	1,24
DT	24	23	22,5	23,5	23	23	24	26	25	26	24	1
Hmotnost	474	348	337	362	370	370	375	449	453	463	400,1	47,72
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	25°C						

Tab. 25.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	5	5	5	5	8	8	5	8	2	2	5,3	5,33
1	35	35	40	35	29	29	30	27	33	33	32,6	3,08
2a	185	275	220	245	183	253	240	255	205	275	233,6	28,28
2b	375	285	335	315	380	310	325	310	360	290	328,5	27,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	275	230	355	180	370	360	275	245	295	145	273	58,4
1	60	170	45	90	110	90	155	210	55	160	114,5	47,4
0	330	375	335	420	315	325	245	235	365	345	329	39,2
Čas odeznění	665	775	735	690	795	775	675	690	715	650	716,5	42,8
CDT	27	30	27	27	29	31	30	31	27	29	28,8	1,44
DT	23	25	23	23	24	26	25	26	23	25	24,3	1,1
Hmotnost	350	475	362	364	450	484	446	448	383	390	415,2	45,4
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	20°C						

Tab. 26.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2	3	3	1	1	2	2	2	0,4
1	23	23	18	18	12	17	19	24	28	48	23	6,2
2a	90	125	110	115	85	115	130	120	95	80	106,5	15,2
2b	485	450	470	465	500	465	450	455	475	470	468,5	11,5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	510	360	425	480	510	240	370	395	250	390	393	71
1	40	35	25	70	120	35	80	25	115	70	61,5	29,5
0	300	385	280	235	280	325	355	375	405	355	329,5	45,5
Čas odeznění	850	780	730	785	910	600	805	795	770	815	784	51,2
CDT	29	34	29	31	28	26	29	31	28	30	29,5	1,6
DT	25	29	24	26	24	21,5	25	26	24	25	24,95	1,26
Hmotnost	381	656	407	488	479	368	478	543	414	456	467	61,8
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	20°C						

Tab. 27.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	1	1	2	2	2	2	3	3	2	0,4
1	18	23	19	19	23	33	18	18	14	14	19,9	3,86
2a	160	225	175	210	175	180	145	150	163	223	180,6	23,24
2b	420	350	405	370	400	385	435	430	420	360	397,5	25
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	405	165	280	360	505	480	480	325	450	330	378	86
1	195	205	125	95	20	80	110	45	25	170	107	54
0	600	430	255	320	270	240	230	470	355	245	341,5	97,8
Čas odeznění	1200	800	660	775	795	800	820	840	830	745	826,5	78,1
CDT	30	29	34	28	30	29	39	32	27	29	30,7	2,58
DT	26	24	28,5	24	25	27	24	26,5	23	24	25,2	1,44
Hmotnost	489	420	620	369	486	361	423	520	379	398	446,5	65,8
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	20°C						

Tab. 28.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1,6	
1	14	19	18	18	18	23	18	18	14	14	17,4	2,04
2a	80	80	70	65	55	75	55	55	80	70	68,5	8,8
2b	505	500	510	515	525	500	525	525	505	515	512,5	8,5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	700	1020	390	420	420	970	540	960	380	325	612,5	240
1	85	195	60	55	25	140	75	130	40	85	89	39,6
0	435	275	280	185	465	340	505	50	180	280	299,5	109,4
Čas odeznění	1220	1490	730	660	910	1450	1120	1140	600	690	1001	283
CDT	28	30	28	31	27	27	28	27	33	27	28,6	1,64
DT	23	25	24	26	23	23	23	22,5	27	22,5	23,9	1,28
Hmotnost	407	491	366	557	350	393	371	343	512	382	417,2	61,68
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l											
T:	20°C											

Tab. 29.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	4	5	5	3	3	2	2	4	4	3,4	1
1	23	21	15	15	22	22	18	18	18	21	19,3	2,5
2a	485	475	415	425	425	460	470	490	408	465	451,8	26,84
2b	90	100	165	155	150	115	110	90	170	110	125,5	27,6
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	165	150	210	190	210	240	185	205	185	170	191	20,2
1	70	70	50	85	80	70	55	60	20	50	61	14
0	385	335	350	375	375	365	345	350	390	415	368,5	19,5
Čas odeznění	620	555	610	650	665	675	585	615	595	635	620,5	28,6
CDT	13	11	12	11	11	13	12	12	13	12	12	0,6
DT	10,5	9	10,5	9,5	9	10,5	9,5	9,5	10,5	10	9,85	0,55
Hmotnost	31	20	25	25	23	30	26	24	34	30	26,8	3,56
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l											
T:	15°C											

Tab. 30.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	2	2	3	3	2	2	2	2	1	1	2	0,4	
1	23	23	20	20	23	23	28	28	24	24	23,6	1,92	
2a	140	155	132	142	125	135	115	140	115	125	132,4	10	
2b	435	420	445	435	450	440	455	430	460	450	442	10	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	675	560	625	540	545	630	470	595	590	500	573	50	
1	105	40	55	120	15	90	25	125	40	40	65,5	35,6	
0	120	290	210	200	280	190	285	190	255	285	230,5	48,5	
Čas odeznění	900	890	890	860	840	910	780	910	885	825	869	34,2	
CDT	35	29	31	30	30	33	29	28	27	29	30,1	1,74	
DT	29	24	26	25	25	27	24	23	22	24	24,9	1,5	
Hmotnost	732	407	519	503	515	565	418	405	392	508	496,4	72,72	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,030 ml/l												
					T:	15°C							

Tab. 31.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	2	2	5	5	2	2	3	3	2	6	3,2	1,28	
1	18	18	20	20	23	23	17	17	23	19	19,8	2	
2a	100	110	90	110	85	115	90	105	95	95	99,5	8,5	
2b	480	470	485	465	490	460	490	475	480	480	477,5	8	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	410	420	470	495	430	515	470	515	380	390	449,5	43,5	
1	205	160	155	105	170	160	205	95	25	150	143	40,8	
0	195	270	180	230	220	180	185	230	365	295	235	45	
Čas odeznění	810	850	805	830	820	855	860	840	770	835	827,5	21	
CDT	31	28	30	31	27	29	34	29	31	29	29,9	1,5	
DT	25	23	25	26	22	24	29	24	25	24	24,7	1,3	
Hmotnost	480	404	431	432	368	404	646	532	481	394	457,2	62,04	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,040 ml/l												
					T:	15°C							



p. 32.: Tabulka záznamů

ve/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
s												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	3	3	2	2	5	5	1	1	2,8	1,04
1	17	17	19	19	13	13	12	12	24	24	17	3,6
	70	85	58	53	75	85	98	103	75	85	78,7	12,5
	510	495	520	525	510	500	485	480	500	490	501,5	11,8
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	530	540	610	560	610	530	540	650	415	600	558,5	47,5
1	125	130	125	140	50	90	60	120	190	105	113,5	29,8
0	265	275	270	290	300	300	330	180	295	280	278,5	24,8
znění	920	945	1005	990	960	920	930	950	900	985	950,5	27,6
T	28	30	28	32	28	34	28	29	32	31	30	1,8
	23	25	23	26	23	28	23	24	26	25	24,6	1,4
otnost	385	444	430	536	412	657	387	444	512	482	468,9	62,28
stetikum:	Hřebíčkový olej											
centrace:	0,060 ml/l				T:	15°C						

. 33.: Tabulka záznamů

ve/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	11	14	3	5	8	5	4	4	11	12	7,7	3,5
1	25	31	33	30	24	33	27	35	30	30	29,8	2,68
	307	300	240	322	243	234	291	311	276	260	278,4	27,8
	257	255	324	243	325	328	278	250	283	298	284,1	27,72
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	332	113	179	151	178	204	71	278	130	199	183,5	55,8
1	54	270	189	259	180	161	417	201	173	219	212,3	63,16
0	285	283	357	325	189	100	122	217	232	174	228,4	68
znění	671	666	725	735	547	465	610	696	535	592	624,2	74,4
T	35	34	34	31	31	34	32	35	29	31	32,6	1,8
	29,5	28,5	29	26,5	26	28,5	27,5	29	24,5	27	27,6	1,3
otnost	692	717	656	500	488	707	553	703	400	512	592,8	102,2
stetikum:	Hřebíčkový olej											
centrace:	0,025 ml/l				T:	10°C						

Tab. 34.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	2,6	0,48
1	17	25	33	33	22	22	33	33	17	17	25,2	6,24
2a	120	182	132	195	110	132	150	140	210	205	157,6	32,32
2b	210	281	390	370	311	443	415	425	370	330	354,5	57,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	418	216	305	383	375	435	188	352	396	406	347,4	66,64
1	163	254	105	112	175	150	397	248	174	179	195,7	62,38
0	87	175	200	185	160	215	170	160	92	33	147,7	46,22
Čas odeznění	668	645	610	680	710	800	755	760	662	618	690,8	52,36
CDT	36	34	32	34	33	35	31	31	34	36	33,6	1,48
DT	31	29	27	29	27	29	26	26	29	30	28,3	1,44
Hmotnost	711	678	566	702	563	716	566	454	660	724	634	77,4
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	10°C						

Tab. 35.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	6	8	3	3	3	3	4	4	4	1,2
1	28	35	32	34	31	27	16	19	13	16	25,1	7,28
2a	137	220	132	140	176	175	176	208	157	270	179,1	32,14
2b	297	197	430	418	390	395	405	370	426	310	363,8	57,48
3	135	145	0	0	0	0	0	0	0	0	28	44,8
2b	75	90	0	0	0	0	0	0	0	0	16,5	26,4
2a	510	350	266	365	342	380	400	470	337	388	380,8	48,96
1	193	179	99	40	18	53	205	145	148	138	121,8	55,44
0	172	346	132	160	285	217	90	70	180	144	179,6	61,92
Čas odeznění	950	965	497	565	645	650	695	685	665	670	698,7	103,52
CDT	35	34	34	32	34	37	34	33	34	33	34	0,8
DT	29,5	29	28	27	29	31	28	27,5	28	27	28,4	0,98
Hmotnost	64	33	24	34	39	27	39	76	33	30	39,9	12,04
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	10°C						

Tab. 38.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	4	4	5	5	6	6	5	5	6	6	5,2	0,64		
1	34	36	35	40	29	34	35	35	39	44	36,1	2,94		
2a	352	470	325	315	280	435	295	365	325	345	350,7	43,84		
2b	210	90	235	240	285	125	265	195	230	205	208	43,4		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2a	210	195	230	295	480	245	490	215	315	295	297	78,8		
1	315	165	340	255	180	385	85	240	270	355	259	74		
0	325	470	255	285	250	260	375	375	370	255	322	61		
Čas odeznění	850	830	825	835	910	890	950	830	955	905	878	44		
CDT	32	32	32	32	34	32	35	31	34	32	32,6	1,04		
DT	27	27	27	26	29	27	31	26	27	26	27,3	1,08		
Hmotnost	550	590	503	490	630	635	790	533	665	546	593,2	69,44		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,030 ml/l													
					T:	5°C								

Tab. 39.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl		
Čas														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
0	6	6	6	6	7	7	3	3	4	4	5,2	1,36		
1	24	29	29	34	23	26	32	32	36	41	30,6	4,4		
2a	175	265	200	260	200	277	175	215	160	190	211,7	34,04		
2b	395	300	365	300	370	290	390	350	400	365	352,5	34		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2a	520	430	610	735	660	680	610	620	440	700	600,5	82,3		
1	160	350	140	195	120	210	100	110	230	130	174,5	57,4		
0	385	425	500	445	560	530	510	545	520	440	486	49,8		
Čas odeznění	1065	1205	1250	1375	1340	1420	1220	1275	1190	1270	1261	75		
CDT	34	28	35	33	31	31	35	33	34	32	32,6	1,68		
DT	28	24	30	28	27	27	30	27	29	27	27,7	1,3		
Hmotnost	640	355	745	585	550	490	670	590	622	612	585,9	72,72		
Anestetikum:	Hřebíčkový olej													
Koncentrace:	0,040 ml/l													
					T:	5°C								

Tab. 40.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	3	3	4	4	6	6	3,6	1,12
1	22	22	18	20	17	22	13	16	14	14	17,8	3
2a	170	205	130	278	190	205	178	200	175	200	193,1	24,5
2b	405	370	450	300	390	370	405	380	405	380	385,5	25,5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	1173	1200	830	665	990	1005	910	870	1035	1100	977,8	127,24
1	37	165	265	400	190	255	335	350	75	60	213,2	107,8
0	580	280	415	330	395	330	375	385	490	470	405	67
Čas odeznění	1790	1645	1510	1395	1575	1590	1620	1605	1600	1630	1596	62,8
CDT	37	34	30	37	36	32	34	40	35	34	34,9	2,1
DT	32	29	25	32	30	27	29	35	29	29	29,7	2,04
Hmotnost	800	677	420	922	666	525	710	1105	760	673	725,8	136,76
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l				T:	5°C						

Tabulky záznamu průběhu pokusu pro kategorii ryby K3

Tab. 41.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	4	5	5	2	3	2	2	2	2	3	3
1	17	16	25	25	19	17	16	21	16	23	19,5	3,2
2a	307	379	190	450	329	271	248	287	292	325	307,8	50,36
2b	273	201	380	120	250	309	334	290	290	250	269,7	51,56
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	80	242	160	365	400	425	368	320	200	170	273	102,6
1	170	215	160	105	99	95	253	68	140	195	150	48,6
0	300	103	200	75	151	190	199	340	90	95	174,3	71,5
Čas odeznění	550	560	520	545	650	710	820	728	430	460	597,3	103,76
CDT	54	58	57	61	58	65	60	66	54	66	59,9	3,7
DT	48	52	50	52	50	55	50	57	48	56	51,8	2,6
Hmotnost	3486	4416	3578	4502	2999	4584	3392	5800	3490	5678	4192,5	803,5
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	20°C						

Tab. 42.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	3	1	1	2	2	1	1	1	2	1,6	0,6
1	13	13	16	24	18	21	23	24	23	22	19,7	3,76
2a	195	249	93	145	130	147	106	195	126	166	155,2	36,84
2b	390	335	490	430	450	430	470	380	450	410	423,5	35,8
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	373	306	370	196	425	270	340	315	316	330	324,1	43,5
1	108	139	175	134	55	180	120	57	49	130	114,7	37,96
0	166	185	115	275	230	240	215	223	205	230	208,4	32,52
Čas odeznění	647	630	660	605	710	690	675	595	570	690	647,2	37,8
CDT	53	59	56	58	58	58	58	60	58	60	57,8	1,32
DT	45	50	48	49	52	53	50	52	49	52	50	1,8
Hmotnost	2786	3334	2595	3404	3892	4372	2720	4054	3052	3052	3326,1	485,1
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	20°C						

Tab. 43.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	3	2	2	1	1	2	3	3	4	2,3	0,76
1	15	13	13	12	19	19	28	27	24	23	19,3	4,96
2a	158	314	155	391	170	285	260	205	198	289	242,5	65,3
2b	425	270	430	195	410	295	310	365	375	284	335,9	65,1
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	242	201	290	170	225	210	200	170	245	170	212,3	30,56
1	154	57	150	100	145	165	200	240	105	195	151,1	39,7
0	249	228	140	230	420	375	230	230	210	95	240,7	64,38
Čas odeznění	645	486	580	500	790	750	630	640	560	460	604,1	86,9
CDT	62	56	61	61	60	58	50	63	62	54	58,7	3,36
DT	53	48	52	52	51	50	43	55	54	47	50,5	2,8
Hmotnost	4540	2845	3542	4254	3726	3588	2133	4960	4289	3124	3700,1	653,7
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	20°C						

Tab. 44.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1	1,9	
1	37	37	27	28	15	18	24	24	24	24	25,8	5,16
2a	65	70	80	50	143	165	65	70	75	85	86,8	26,88
2b	495	490	490	520	440	415	510	505	500	490	485,5	23,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	370	160	361	410	270	230	312	346	255	252	296,6	63,2
1	105	158	69	60	50	65	71	34	216	183	101,1	51,52
0	165	272	270	255	335	330	417	450	354	160	300,8	76,4
Čas odeznění	640	590	700	725	655	625	800	830	825	595	698,5	77,5
CDT	58	58	59	61	58	62	56	61	57	56	58,6	1,72
DT	50	51	51	53	51	54	47	52	51	49	50,9	1,34
Hmotnost	3528	3682	3402	4232	3324	3894	3500	4292	3470	3318	3664,2	288,64
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l											
	T: 20°C											

Tab. 45.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	2	2	3	3	2	2	3	3	2,6	0,48
1	33	37	38	38	22	22	33	33	24	27	30,7	5,56
2a	199	215	235	255	297	395	250	285	258	275	266,4	37,28
2b	365	345	325	305	278	180	315	280	315	295	300,3	33,64
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	350	260	310	300	240	300	360	295	310	200	292,5	35,5
1	90	118	175	155	280	200	220	145	260	190	183,3	46,7
0	222	182	249	239	180	180	265	390	200	360	246,7	55,44
Čas odeznění	662	560	734	694	700	680	845	830	770	750	722,5	63,3
CDT	57	61	58	64	58	61	56	64	59	62	60	2,4
DT	48	51	49	54	52	55	48	56	51	53	51,7	2,3
Hmotnost	3320	3556	4066	5126	4546	5096	4208	5178	4108	5090	4429,4	577,8
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l											
	T: 15°C											

Tab. 46.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	5	5	5	5	3	3	3	3	3,8	0,96
1	22	22	20	20	25	25	24	24	22	17	22,1	1,92
2a	155	160	111	195	120	170	173	138	255	135	161,2	29,64
2b	420	415	464	380	450	400	400	435	320	445	412,9	30,32
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	225	275	290	325	330	185	240	187	292	200	254,9	47,5
1	220	218	120	210	135	305	170	253	290	190	211,1	46,1
0	290	267	375	300	140	300	70	455	218	360	277,5	83
Čas odeznění	735	760	785	835	605	790	480	895	800	750	743,5	82,1
CDT	60	61	56	61	59	63	55	63	56	63	59,7	2,56
DT	52	53	48	53	50	56	48	55	48	54	51,7	2,56
Hmotnost	4394	5062	3530	4452	4136	5700	3840	5100	3786	5056	4505,6	579,12
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	15°C						

Tab. 47.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	5	6	4	5	3	3	8	8	4,8	1,6
1	12	12	15	14	26	27	22	22	12	12	17,4	5,48
2a	85	95	97	110	80	78	108	98	130	100	98,1	11,12
2b	500	490	483	470	490	490	467	477	450	480	479,7	10,96
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	130	366	280	580	610	590	490	520	390	410	436,6	121,4
1	323	227	130	50	190	200	310	170	274	170	204,4	63,28
0	237	137	216	215	100	140	60	160	166	150	158,1	40,7
Čas odeznění	690	730	626	845	900	930	860	850	830	730	799,1	84,08
CDT	57	58	62	59	61	62	58	63	59	62	60,1	1,9
DT	49	50	53	50	52	53	50	54	51	53	51,5	1,5
Hmotnost	4192	4296	3274	4260	4555	4914	4212	5744	4020	4780	4424,7	458,84
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	15°C						

Tab. 48.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	5	4	5	5	3	3	4	4	3,9	0,72
1	22	23	31	36	18	18	27	27	24	24	25	4,2
2a	37	65	62	120	77	97	50	80	62	67	71,7	17,44
2b	538	509	502	440	500	480	520	490	510	505	499,4	17,64
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	465	543	600	360	450	520	410	510	330	550	473,8	70,8
1	52	31	15	150	10	380	150	75	350	150	136,3	99,7
0	265	275	270	290	300	300	330	180	295	280	278,5	24,8
Čas odeznění	782	849	885	800	760	1200	890	765	975	980	888,6	98,12
CDT	58	63	59	69	55	64	58	58	60	60	60,4	2,96
DT	49	54	52	59	47	55	50	50	52	52	52	2,4
Hmotnost	3478	4953	4224	5740	3262	5128	3608	4270	3892	3626	4218,1	644,9
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,060 ml/l				T:	15°C						

Tab. 49.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	7	8	9	6	5	5	4	4	5	3	5,6	1,52
1	28	27	19	24	28	30	26	31	23	30	26,6	2,88
2a	325	340	297	270	320	280	220	345	247	267	291,1	34,3
2b	240	225	275	300	247	285	350	220	325	300	276,7	35,3
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	224	445	835	500	399	720	770	980	605	680	615,8	181,2
1	149	80	75	370	45	10	60	55	32	30	90,6	67,56
0	197	135	80	175	175	100	140	145	248	270	166,5	46,5
Čas odeznění	570	660	990	1045	619	830	970	1180	885	980	872,9	162,52
CDT	55	70	55	50	58	60	58	67	52	54	57,9	4,7
DT	46	60	47	44	49	50	49	57	44	46	49,2	3,88
Hmotnost	3066	4976	3180	2828	3705	4008	3418	4878	2575	3105	3573,9	654,28
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,025 ml/l				T:	10°C						



Tab. 50.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	4	6	3	3	2	2	4	2	3,2	0,88
1	22	22	18	19	20	22	23	33	16	25	22	3
2a	190	210	175	190	152	180	160	130	160	188	173,5	18,4
2b	385	365	403	385	425	395	415	435	420	385	401,3	18,3
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	360	375	410	395	410	425	410	290	380	350	380,5	29,5
1	305	245	235	195	290	295	250	240	215	195	246,5	30,8
0	335	335	300	380	250	280	285	315	310	295	308,5	26,5
Čas odeznění	1000	955	945	970	950	1000	945	845	905	840	935,5	43,3
CDT	56	55	58	56	52	55	57	56	52	57	55,4	1,52
DT	48	49	49	48	43	47	50	49	46	49	47,8	1,48
Hmotnost	2954	3574	2913	3636	2452	3036	3320	3128	2992	3694	3169,9	308,88
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	10°C						

Tab. 51.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	4	2	2	3	3	3	2	2	2	2,5	0,6
1	23	24	28	28	27	30	32	33	28	33	28,6	2,72
2a	100	112	90	135	110	167	100	150	110	150	122,4	22,48
2b	475	460	480	435	460	400	465	415	460	415	446,5	24,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	395	420	455	485	445	480	440	485	396	420	442,1	27,9
1	325	410	300	285	375	300	380	350	400	400	352,5	40,5
0	260	265	170	245	265	180	265	275	235	190	235	33
Čas odeznění	980	1095	925	1015	1085	960	1085	1110	1031	1010	1029,6	51,6
CDT	57	50	56	57	54	66	58	71	55	68	59,2	5,48
DT	48	43	48	49	48	57	50	61	48	57	50,9	4,46
Hmotnost	3298	2433	3886	3510	3034	4174	3700	5346	3425	4726	3753,2	623,84
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	10°C						

Tab. 52.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2,2	0,32	
1	18	23	28	33	18	18	27	27	33	26	25,1	4,68	
2a	68	85	65	105	80	90	60	75	60	77	76,5	10,9	
2b	512	490	505	460	500	490	510	495	505	495	496,2	10,2	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	475	535	455	535	575	545	440	488	420	515	498,3	42,7	
1	275	355	455	275	345	295	500	407	515	335	375,7	74,84	
0	350	250	245	315	225	250	210	225	215	225	251	32,6	
Čas odeznění	1100	1140	1155	1125	1145	1090	1150	1120	1150	1075	1125	23	
CDT	32	34	35	33	35	32	30	35	33	33	33,2	1,24	
DT	27	29	30	27	30	27	26	30	28	28	28,2	1,24	
Hmotnost	585	620	725	590	745	590	462	750	635	685	638,7	70,04	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,060 ml/l												
					T:	10°C							

Tab. 53.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	3	3	5	5	2	2	6	6	3	3	3,8	1,36	
1	22	22	30	30	23	23	29	29	25	32	26,5	3,5	
2a	140	265	175	205	205	160	155	170	152	140	176,7	28,98	
2b	435	310	390	360	370	415	410	395	420	425	393	28,4	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	890	735	795	765	880	935	890	760	775	820	824,5	59,4	
1	280	585	340	415	275	300	310	550	430	290	377,5	94	
0	245	120	265	275	285	275	150	230	200	190	223,5	46,8	
Čas odeznění	1415	1440	1400	1455	1440	1510	1350	1540	1405	1300	1425,5	51,5	
CDT	60	55	61	57	58	58	60	58	60	54	58,1	1,72	
DT	52	49	53	51	50	50	52	50	52	48	50,7	1,3	
Hmotnost	4882	3723	4416	3530	3196	3632	4222	3865	4362	3354	3918,2	441,84	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,060 ml/l												
					T:	5°C							

Tab. 54.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	6	6	12	12	5	6	6	7	4	4	6,8	2,12
1	14	19	18	18	20	24	24	18	21	21	19,7	2,3
2a	410	500	340	500	285	480	440	495	465	470	438,5	56,1
2b	240	120	185	140	180	90	165	110	150	130	151	33,2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	410	75	105	279	240	150	130	330	103	92	191,4	98,68
1	160	475	460	246	350	460	510	363	397	428	384,9	84,12
0	380	420	375	485	280	280	280	278	270	330	337,8	61,76
Čas odeznění	950	970	940	1010	870	890	920	971	770	850	914,1	55,28
CDT	55	52	55	55	54	55	57	54	56	54	54,7	0,96
DT	47	46	47	46	46	48	48	46	45	45	46,4	0,88
Hmotnost	3260	2805	3220	2925	2800	3315	3420	2650	3245	2850	3049	243
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,030 ml/l				T:	5°C						

Tab. 55.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl
Čas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	5	5	7	7	8	8	5	5	8	8	6,6	1,28
1	20	20	28	28	29	29	33	33	32	32	28,4	3,52
2a	210	145	175	245	168	258	207	237	155	245	204,5	35
2b	365	430	390	320	395	305	355	325	405	315	360,5	36,5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2a	520	430	630	770	730	705	600	570	700	790	644,5	94,5
1	315	245	225	325	300	430	270	600	260	260	323	77,2
0	255	255	320	300	310	325	275	330	370	320	306	27,8
Čas odeznění	1090	930	1175	1395	1340	1460	1145	1500	1330	1370	1273,5	150,8
CDT	60	55	58	59	60	58	54	54	56	56	57	2
DT	52	49	50	51	52	51	48	48	50	44	49,5	1,8
Hmotnost	4222	3616	3865	3952	4362	3905	3254	3354	3514	2456	3650	411,2
Anestetikum:	Hřebíčkový olej											
Koncentrace:	0,040 ml/l				T:	5°C						

Tab. 56.: Tabulka záznamů

Fáze/ryby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Průměr	Rozptyl	
Čas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0	10	10	2	2	5	5	3	3	4	4	4,8	2,16	
1	30	30	43	43	30	30	37	32	26	31	33,2	4,68	
2a	320	440	370	415	385	475	395	455	420	435	411	34,8	
2b	170	75	230	70	290	90	130	80	110	105	135	57	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2a	225	130	310	350	250	310	245	235	225	230	251	43,4	
1	305	305	220	205	290	185	285	220	285	300	260	42	
0	220	415	300	300	285	360	320	425	360	325	331	47,2	
Čas odeznění	750	850	830	855	825	855	850	880	870	855	842	24,2	
CDT	55	54	55	57	50	55	56	50	52	52	53,6	2,08	
DT	48	46	49	49	44	48	47	43	44	43	46,1	2,1	
Hmotnost	3190	2950	3390	3430	2650	3065	2920	2450	2770	2780	2959,5	247,4	
Anestetikum:	Hřebíčkový olej												
Koncentrace:	0,025 ml/l												
					T:	5°C							

