

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA



*disertační práce*

**Možnosti zvyšování produkce násad pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.) a lipana podhorního (*Thymallus thymallus* L.)  
pro zarybňování volných vod**

**Ing. Tomáš Randák**

**2006**

Školitel: Doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zemědělská fakulta

Úvodem bych rád poděkoval Doc. Ing. Petru Hartvichovi, CSc. za vedení mého doktorského studia. Dále bych rád poděkoval ředitelům VÚRH JU ve Vodňanech Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. a Doc. Ing. Otomaru Linhartovi, DrSc. za umožnění realizace výzkumných činností souvisejících s touto prací na pracovišti VÚRH JU Vodňany, paní Prof. MVDr. Zdeňce Svobodové, DrSc. za odborné vedení a pomoc při zpracovávání disertační práce a řešitelům výzkumných projektů, ze kterých byl výzkum financován. Poděkování patří také pracovníkům Oddělení vodní toxikologie a nemocí ryb VÚRH JU za podporu a pomoc při realizaci experimentů. Velmi děkuji paní Andulce Kocové za pomoc při zpracovávání práce.

Děkuji MO ČRS Husinec za velmi dobrou spolupráci a za poskytování ryb, objektů a nádrží k experimentálním činnostem.

Velmi děkuji také své rodině za porozumění, podporu a toleranci v průběhu doktorského studia.

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a za pomoci uvedené literatury.



.....

Ve Vodňanech dne ..... 22.2.2006 .....

<b>1. Úvod</b> .....	<b>6</b>
<b>2. Hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3. Literární přehled</b> .....	<b>9</b>
3.1 Pstruh obecný ( <i>Salmo trutta m. fario</i> L.) .....	9
3.2. Lipan podhorní ( <i>Thymallus thymallus</i> L.).....	16
3.3 Technologie a management chovu pstruha obecného a lipana podhorního v ČR.....	23
3.4 Adaptabilita uměle odchovaných násad v přírodních podmínkách a jejich vliv na původní populace .....	30
<b>4. Materiál a metodika</b> .....	<b>39</b>
4.1 Hodnocení potenciálního vlivu kontaminace vodního prostředí na přirozenou reprodukci lososovitých ryb .....	39
4.2. Odchov generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách .....	42
4.3 Zvyšování efektivity umělé reprodukce lipana podhorního .....	45
4.4 Posouzení vlivu podmínek umělého chovu generačních ryb na kvalitu pohlavních produktů, plůdku a adaptabilitu potomstva těchto ryb v prostředí volných vod .....	51
4.5 Hodnocení efektivity odchovu násad pstruha obecného vysazovaného ve stádiu čtvrtročka v odchovných potocích .....	57
4.6 Návrh opatření umožňujících zvýšení produkce kvalitních a adaptabilních násad pstruha obecného a lipana podhorního .....	58
<b>5. Výsledky a diskuse</b> .....	<b>59</b>
5.1 Hodnocení potenciálního vlivu kontaminace vodního prostředí na přirozenou reprodukci lososovitých ryb .....	59
5.2. Odchov generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách .....	67
5.3 Zvyšování efektivity umělé reprodukce lipana podhorního .....	71
5.4 Posouzení vlivu podmínek umělého chovu generačních ryb na kvalitu pohlavních produktů, plůdku a adaptabilitu potomstva těchto ryb v prostředí volných vod .....	79
5.5 Hodnocení efektivity odchovu násad pstruha obecného vysazovaného ve stádiu čtvrtročka v odchovných potocích .....	100
5.6 Návrh opatření umožňujících zvýšení produkce kvalitních a adaptabilních násad cílových druhů pro zarybňování volných vod .....	102
<b>6. Závěry</b> .....	<b>108</b>
<b>7. Použitá literatura</b> .....	<b>109</b>

<b>8. Souhrn .....</b>	<b>124</b>
<b>9. Summary .....</b>	<b>126</b>
<b>10. Přehled publikací.....</b>	<b>128</b>
10.1 Publikace vztahující se k tématu práce.....	128
10.2 Ostatní významné publikace .....	129
<b>11. Stanovení SCI .....</b>	<b>131</b>
<b>Příloha .....</b>	<b>132</b>

## 1. ÚVOD

Pstruh obecný (*Salmo trutta m. fario* L.) a lipan podhorní (*Thymallus thymallus* L.) patří k dominantním a hospodářsky nejvýznamnějším druhům tzv. pstruhových - nyní lososových vod v ČR. V současnosti však dochází v našich tocích k poklesu jejich stavů. Tento pokles je ovlivněn řadou faktorů. Mezi nejvýznamnější patří nešetrné úpravy toků, zvyšující se rybářský tlak a zvyšování účinnosti lovných způsobů, působení predátorů, antropogenní znečištění, atp. Aby nedocházelo k jejich dalšímu úbytku a případnému vymizení z některých lokalit, je nutno přijmout opatření spočívající ve větší ochraně těchto druhů. Zvýšená ochrana znamená např. omezení jejich lovu, zvýšení členitosti toků, omezení působení predátorů, atp. Řada těchto potřebných opatření je však v současnosti nereálná. Současná politika směřuje prakticky ke kompletní kanalizaci toků (tzv. popovodňové opravy a úpravy) na území České republiky. Na meliorovaných úsecích jsou odstraňovány přirozené úkryty, devastována trdliště, v době nízkých průtoků se v důsledku srovnání dna v mnoha úsecích horních toků ani nenachází dostatečný vodní sloupec umožňující život ryb. V důsledku nešetrných úprav toků dochází k odstraňování vedlejších ramen řek sloužících jako přirozená refugia pro juvenilní ryby. Přítomnost těchto refugií na pstruhových tocích je klíčová pro úspěšný vývoj plůdku především lipana podhorního, což je základ přirozené obnovy jeho populací. Současně dochází k intenzivnímu tlaku většinou přísně chráněných rybích predátorů (kormorán velký, vydra říční, volavka popelavá), jejichž populace nejsou v důsledku dalších vydatných potravních zdrojů (rybníky) limitovány úživností vlastních toků.

Aby pstruh obecný a lipan podhorní z českých toků úplně nevymizeli, je snaha o intenzivnější doplňování jejich stavů pomocí vysazování uměle odchovaných násad. Množství vysazovaných násad je však limitováno počty uměle vytíraných generačních ryb. Generační ryby jsou obvykle odlovovány v předvýtěrovém období ve volných vodách. Jejich množství je limitováno jednak jejich počtem v prolovovaných lokalitách, ale v případě lipana podhorního i vysokými průtoky vody v jarních měsících, které významně snižují efektivitu odlovu, popř. jej úplně znemožňují. V důsledku nedostatku generačních ryb způsobeném především výše zmíněnými faktory produkce násadového materiálu pstruha obecného a lipana podhorního nepokrývá potřeby subjektů hospodařících na volných vodách. Situace je často řešena dovozy a umělým vysazováním násadových ryb z jiných regionů či ze zahraničí. Nekontrolované vysazování násad různého původu však může negativně ovlivňovat genetické vlastnosti původních místních populací. Jelikož ztráta vnitrodruhové biodiverzity jakožto důsledek

činnosti člověka je nevratný proces, může toto nekontrolované vysazování paradoxně vést až k oslabení těchto populací.

Vhodným řešením úbytku těchto druhů v našich vodách může být úspěšné zvládnutí odchovu generačních ryb v kontrolovaných podmínkách a následné zvýšení množství produkovaného kvalitního a ve volných vodách adaptabilního násadového materiálu. Pro zachování vnitrodruhové diverzity je však nutné v rámci jednotlivých regionů pracovat s místními (pokud možno původními) populacemi. Právě využití místních populací pstruha obecného a lipana podhorního bylo základem této práce. Lokality, z nichž pocházely experimentální populace ryb, nebyly zvoleny náhodně. Snahou bylo najít úseky toků s možností výskytu původních populací pstruhů obecných a lipanů podhorních podstatně neovlivňovaných vysazováním nepůvodních násad. Jednou z mála takovýchto lokalit v oblasti Šumavy je řeka Blanice vodňanská. Jedná se o celý její horní tok nad Husineckou údolní nádrží (cca 20 km) a úsek přibližně 15 km pod touto nádrží. Převážnou většinu těchto úseků rybářsky obhospodařuje místní organizace Českého rybářského svazu (MO ČRS) Husinec. Tato organizace se již od roku 1952 zabývá umělým rozmnožováním pstruha obecného, později bylo započato i s umělou reprodukcí lipana podhorního a mníka jednovouseho. K těmto účelům bylo vytvořeno pod Husineckou nádrží chráněné rybí pásmo a z tohoto pásma jsou už desítky let každoročně odlovovány generační ryby, tyto pak vytírány a vraceny zpět. Nejvyšší kvalita generačních ryb (přibližně jedna třetina z celkového počtu) jsou však ponechány v řece a tím zajišťují přirozenou obnovu generačního hejna. Plůdkem uměle vytíraných ryb jsou zarybňovány přítoky řeky Blanice a 1 – 2letými násadami odchovanými na těchto přítocích jsou pak doplňovány populace nad Husineckou nádrží i v úsecích pod chráněným pásmem MO ČRS Husinec spravovaných sousedícími organizacemi ČRS a VÚRH JU Vodňany. Na chráněnou rybí oblast MO ČRS Husinec bezprostředně navazuje úsek řeky Blanice rybářsky obhospodařovaný VÚRH JU Vodňany. V podmínkách líhně, rybničního hospodářství a chráněné rybí oblasti MO ČRS Husinec a v účelovém revíru VÚRH JU Vodňany proběhla nejvýznamnější část experimentálních prací.

Práce přináší poznatky, které mohou být využity v managementu obhospodařování pstruhových vod v ČR.

## 2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

**Hypotéza:** Racionálnějším využíváním přírodních zdrojů v kombinaci s prvky intenzivní akvakultury lze významně zvýšit produkci kvalitních násad pstruha obecného a lipana podhorního, které si zachovávají vlastnosti původních volně žijících populací.

Hlavní **cíle** práce byly následující:

- 1) Hodnotit vliv kontaminace vodního prostředí na přirozenou reprodukci lososovitých ryb
- 2) Odchovat v kontrolovaných podmínkách generační hejna pstruhů obecných a lipanů podhorních
- 3) V případě lipana podhorního vyvinout a otestovat alternativní postupy a technologie vedoucí ke zvýšení počtu uměle vytíraných jedinců, ke zlepšení průběhu ovulace a ke snížení povýtěrové mortality generačních ryb
- 4) Posoudit vliv podmínek umělého chovu generačních ryb na kvalitu pohlavních produktů, plůdku a adaptabilitu potomstva těchto ryb v prostředí volných vod
- 5) Zvýšit efektivitu odchovu násad pstruha obecného v odchovných potocích
- 6) Na základě získaných výsledků navrhnout opatření umožňující zvýšení produkce kvalitních a adaptabilních násad cílových druhů pro zarybňování volných vod.



## 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 PSTRUH OBECNÝ (*SALMO TRUTTA M. FARIO L.*)

#### 3.1.1 Rozšíření

Pstruh obecný f. potoční je charakteristickým obyvatelem studených toků na evropském kontinentu, dále se vyskytuje i na severu Afriky, na Kavkaze a v Malé Asii. Do mnoha dalších oblastí (Austrálie, Nový Zéland, Indie, Japonsko, Severní a Jižní Amerika, Afrika, atd.) byl introdukován. V rámci svého areálu vytváří pstruh obecný několik nepříliš odlišných subspecií. Populace pstruha obecného původně žijící ve vodách patřících k povodí Baltského moře, Severního moře, Atlantského oceánu, Severního ledového oceánu a Barentsova moře a také ve vodách patřících k úmoří severní části Středozemního moře od Gibraltarů až po Apeninský poloostrov jsou označovány jako *Salmo trutta trutta* Linnaeus, 1758. Potoční pstruhy od nich odvozené nazýváme *Salmo trutta trutta* morpha *fario*. Pstruh obecný žijící ve vodách patřících k povodí Černého moře je označován jako *Salmo trutta labrax* Pallas, 1811. Od něho vzniklé potoční formy, k nimž patří i původní populace ze Slovenska, z větší části Moravy a malého území v západních Čechách, odvodňovaného Dunajem, jsou nazývány *Salmo trutta labrax* morpha *fario*. V různých oblastech světa existují ještě další subspecie. Na našem území původně žily populace pstruha obecného patřící k poddruhu *Salmo trutta trutta* Linnaeus, 1758 (povodí Labe, Odry, Visly) a poddruh *Salmo trutta labrax* Pallas, 1811 (povodí Dunaje). Umělé rozmnožování, výtěr a přesuny jiker či plůdku, s čímž bylo započato již v 19. století, a to zejména do vod v areálu *S. trutta labrax* však způsobily, že došlo k promísení a překrytí původních populací vysazenými násadami pstruha z jiných povodí. V současnosti nelze počítat s tím, že v některých našich vodách by byla čistá populace, kterou bychom mohli odvozovat od subspecie *Salmo trutta labrax*. Pstruh obecný vytváří v rámci svého areálu vedle formy mořské (tažné) i formy potoční (m. *fario*) a jezerní (m. *lacustris*). Původně se na našem území vyskytoval vzácně pstruh obecný forma mořská a hojně pstruh obecný forma potoční. Po vybudování přehradních nádrží vznikly podmínky i pro vznik pstruha obecného formy jezerní. Vznik jezerní formy pstruha z původně potoční formy po vysazení do nových údolních nádrží byl i u nás pozorován, a to v průběhu 1 – 2 generací. Pstruh obecný f. mořská patří již především v důsledku vybudování přehradních nádrží k vymizelým prvkům naší ichtyofauny. Pstruh obecný se v našich vodách v současnosti vyskytuje ve formě potoční a formě jezerní (Baruš *et al.*, 1995).

### 3.1.2 Popis

Pstruh obecný forma potoční (*Salmo trutta m. fario* L.) dorůstá obvykle 25 – 40 cm a hmotnosti 0,25 – 0,60 kg, výjimečně délky až 60 – 80 cm a hmotnosti 3,0 – 6,0 kg. Pstruh obecný forma jezerní (*Salmo trutta m. lacustris* L.) dosahuje obvykle velikosti 50 – 80 cm a 2,0 – 7,0 kg, výjimečně délky až 100 cm a hmotnosti 8,0 – 15,0 kg. Početnost a biomasa obsádky pstruha obecného v typických pstruhových vodách dosahuje obvykle hodnot v rozmezí 400 – 4 000 ks a 50 – 300 kg.ha<sup>-1</sup> (Baruš *et al.*, 1995).

Pstruh obecný je v našich vodách posuzován jako ryba krátkověká, dožívající se v průměru věku 3 – 5 let, jedinci vyššího věku jsou málo početní (Libosvářský *et al.*, 1971; Lusk *et al.*, 1983; Poupě, 1981; Sedlár *et al.*, 1985).

Růst pstruha obecného je v našich vodách výrazně sezónní, přičemž 80 – 90 % ročního délkového i hmotnostního přírůstku je vytvořeno v období od dubna do září. V období od dubna do července je to především přírůstek vlastního těla, v období od července do září spíše růst gonád (Libosvářský, 1968; Libosvářský *et al.*, 1970).

Tělo pstruha obecného je protáhlého vřetenovitého tvaru a je dokonale přizpůsobené životu v proudící vodě. Hřbetní ploutev je umístěna ve středu těla, břišní ploutve jsou umístěny na svislici pod středem její základny. Ocasní ploutev u mladších jedinců je mírně vykrojená, u starších ryb je ukončena rovně nebo je mírně obloukovitě vyklenutá. Prsní a břišní ploutve jsou poměrně krátké a zaokrouhlené. Mezi hřbetní a ocasní ploutví je tuková ploutev, ohnutá dozadu téměř rovnoběžně s osou těla (Baruš *et al.*, 1995).

Zbarvení u pstruha obecného formy potoční je velmi proměnlivé. Značné rozdíly jsou nejen mezi populacemi z různých toků, ale i mezi jedinci v rámci jedné populace z téhož stanoviště. Určitá proměnlivost ve zbarvení je u téhož jedince nejen v průběhu jeho vývoje (věku), ale i v průběhu roku, uplatňuje se i kondice a změny v prostředí. Základní zbarvení je takovéto: boky a hřbet jsou šedohnědé, zlatohnědé nebo modrozelené. Hřbetní část je velmi tmavá, šedo až hnědočerná. U starších ryb bývá zvýrazněna hnědá složka, která přechází do měděného tónu. Boky směrem k břichu jsou postupně světlejší, šedo či hnědožlutavé. Břicho může být bílé (zejména u mladších jedinců), nažloutlé, někdy šedavé. Na hřbetě nad postranní čarou jsou temné až černé skvrny, které zasahují i na horní část skřelí až k oku. Pod postranní čarou je černých teček (zejména u mladších jedinců) méně. Pstruh obecný f. potoční má charakteristické červené až karmínové či rezavohnědé skvrny na bocích podél postranní čáry. Obvykle jich bývá 10 – 30, o průměru 1 – 3 mm. Červené skvrny jsou často ve více či méně výrazných bílých či nažloutlých, anebo alespoň světlejších kruhových dvorcích. Někdy jsou tyto světlejší dvorce i okolo tmavých skvrn. Základní zbarvení pstruha je zpestřeno ještě

fluororesenčními lesky, většinou modrozelenými či zlatavě měděnými. U mladých jedinců bývají na těle neohraničené příčné tmavé pruhy nebo namodralé tmavé ostrůvky (Baruš *et al.*, 1995). Rozsáhlou variabilitu zbarvení pstruha obecného v našich vodách dokumentoval v řadě prací Dyk (1957, 1965).

### 3.1.3 Nároky na prostředí

Výskyt pstruha obecného je limitován především kvalitou vody, teplotními maximy a dostatečným obsahem kyslíku. Za optimální rozmezí teplot vody v případě pstruha obecného lze považovat 8 – 16 °C. Za letální je možno považovat teploty vody dlouhodobě překračující 22 °C. Za optimální pH vody pro pstruha obecného lze považovat hodnoty nacházející se v rozmezí 6 – 8. Za letální lze považovat pH nižší než 4,8 a vyšší než 9,2. Za optimální koncentrace kyslíku ve vodě lze považovat rozmezí 8 – 10 mg.l<sup>-1</sup>. Při poklesu koncentrace pod 3 mg.l<sup>-1</sup> lze u ryb pozorovat příznaky dušení. Organické znečištění bývá často příčinou snižování koncentrací kyslíku ve vodě. Koncentrace organických látek spotřebovávajících kyslík ve vodě se hodnotí pomocí parametrů CHSK a BSK<sub>5</sub>. V chovech lososovitých ryb má být CHSK<sub>(Mn)</sub> do 10 mg.l<sup>-1</sup>, BSK<sub>5</sub> do 5 mg.l<sup>-1</sup> (Svobodová *et al.*, 1987; Čítek *et al.*, 1997). Původním a charakteristickým prostředím pstruha obecného f. potoční jsou vodní toky – potoky, říčky a řeky, které jsou podle Fričovy klasifikace označovány jako tzv. pstruhové pásmo. Hojně se vyskytuje i v pásmu lipanovém. Pstruh se vyhýbá otevřenému volnému vodnímu sloupci, své stanoviště volí v místech tzv. proudového stínu, tj. u dna za kameny, v příbřežní zóně pod kořeny, ale i v dutinách a v úkrytech ve březích, hrázkách a výhonech. Členitost prostředí je rozhodujícím činitelem, který určuje početnost obsádky pstruha v našich tocích (tzv. úkrytová kapacita toku) (Baruš *et al.*, 1995).

### 3.1.4 Chování

Pstruh obecný je ryba stanovištní, která v průběhu roku, s výjimkou třecích migrací a změn souvisejících s růstem, v zásadě nemění stanoviště (Gerking, 1959; Harcup *et al.*, 1984; Hesthagen, 1988). Vysokou prostorovou stálost (stabilitu) pstruha obecného v menších potocích prokázali Libosvářský (1968), Libosvářský *et Lusk* (1977). K posunům značených jedinců (převážně po toku) docházelo především v důsledku překročení úkrytové kapacity toku, přičemž posuny se týkaly především mladších jedinců. Třecí migrace pstruha obecného lze charakterizovat jako pohyb proti proudu během podzimních měsíců (Crisp, 2000). Intenzita reprodukčních migrací pstruha obecného je často vztahována k velikosti průtoku

(Banks, 1969; Northcote, 1984). Někteří autoři (Jonsson, 1985; Evans, 1994) uvádějí, že vyšší průtoky stimulují reprodukční migrace proti proudu, avšak jiné práce dokládají opačný vztah (Solomon *et* Templeton, 1976; Davis *et* Sloane, 1987). Slavík *et* Bartoš (2004) v řece Ohři, kde je variabilita průtoku silně ovlivněna manipulačním řádem přehradní nádrže Nechranice, zjistili, že pstruzi pro reprodukční migrace upřednostňovali nízké a stabilní průtoky. Slavík *et al.* (2004) na horní Vltavě a Vydře prokázali vliv spádu toku na délku migrace, kdy pstruzi v úsecích s velkým spádem migrovali na zřetelně kratší vzdálenosti. Tuto skutečnost autoři odůvodnili vysokou a nevýhodnou energetickou spotřebou při migracích v tocích s velkým spádem. Pomocí radio-telemetrických studií bylo prokázáno, že populace pstruhů jsou tvořeny částí stacionární i částí migrační (Young, 1996). Pstruzi náležející do migrační části populace se mohou pohybovat i na vzdálenosti kolem 35 km (Clapp *et al.*, 1990) a délka migrace je přímo úměrná velikosti ryby (Young, 1994). Dalším významným zjištěním získaným pomocí radio-telemetrie bylo, že pstruzi mohou vykonávat mnohem delší migrace vyvolané variabilitou podmínek prostředí (např. průtok a teplota) ve srovnání s reprodukčním procesem (Clapp *et al.*, 1990; Meyers *et al.*, 1992). Tyto migrace mohou být orientovány jak po proudu, tak proti němu. Je pravděpodobné, že tyto migrace hrají zásadní roli při změně početnosti divokých populací pstruhů obecných v různých typech prostředí.

Lusk *et al.* (1983) řadí pstruha k rybám stanovištním s teritoriálními nároky. Teritoria pstruhů jsou v toku rozmístěna mozaikovitě, vzájemně na sebe navazují a vyplňují celý možný prostor vodního toku. Hranice teritoria se většinou kryjí se zrakovým dosahem ryby z místa, kde stojí v úkrytu. Individualistické chování pstruha obecného se v přírodním prostředí výrazně projevuje již od velikosti přibližně 50 mm. Velikost teritoria závisí především na velikosti ryby, potravní nabídce a členitosti prostředí (Dyk *et al.*, 1949; Libosvářský *et al.*, 1971; Minns, 1995; Jonsson *et al.*, 2000; Brannas *et al.*, 2003; Hojesjo *et al.*, 2004). Za zvýšených vodních průtoků pstruzi opouštějí svá stanoviště v exponované části proudnice a přečkávají toto období v úkrytech u břehů (Lusk 1979a, 1979b).

### 3.1.5 Potrava

Potravu pstruha obecného tvoří živočišné organismy, především vodní a suchozemští bezobratlí, v menší míře pak i obratlovci, především ryby, žáby a menší savci. Základní část potravy pstruha tvoří vodní bezobratlí, především larvy vodního hmyzu (chrostíci, jepice, pošvatky), dále korýši, měkkýši, červi. S rostoucí velikostí ryb narůstá i velikost potravních složek. Významnou potravní složkou v teplých obdobích roku je i suchozemský hmyz (Dyk, 1956; Tuček, 1955; Frank, 1962; Straškraba *et al.*, 1966; Tuša, 1968, 1969).

## 1.6 Rozmnožování

Pstruh obecný obvykle pohlavně dospívá ve věku 2 – 4 let, přičemž nástup pohlavní dospělosti v rámci jedné populace bývá zpravidla o rok dříve než u samic. U většiny samců obvykle nastupuje pohlavní dospělost ve 2. - 3. roce, u samic pak ve 3. – 4. roce. Poměr ohlavi bývá obvykle přibližně vyrovnaný (Lusk, 1968a; Libosvářský *et al.*, 1974; Taube, 1976).

V našich podmínkách obvykle probíhá tření v období od konce září do poloviny prosince. Jeho počátek ovlivňuje především teplota vody (Baruš *et al.*, 1995; Dyk *et al.*, 1949; Pokorný *et al.*, 1998). U pstruha obecného je obvykle období tření spojeno s delšími či kratšími migracemi, které jsou stimulovány především hydrologickými a klimatickými vlivy. V našich podmínkách délka třecích migrací pstruha obecného obvykle nepřesahuje 1 km. Na začátku převládají v hejnech migrujících na trdliště samci, v druhé polovině období tření bývá převaha samic. Samci se zdržují na trdlišti obvykle delší časové období než samice (Libosvářský, 1967, 1974, 1976; Baruš *et al.*, 1995; Slavík *et al.*, 2004; Slavík *et al.*, 2004; aj.). Při tahu na tření překonávají pstruzi i poměrně vysoké překážky. Převážně větší jedinci překonávají překážky skokem a jsou schopni úspěšně zdolat až 115 cm výškový rozdíl hladin (Peňáz, 1964). Vlastní trdliště se nachází většinou na místech s písčítým nebo šterkopísčítým dnem, s pomaleji proudící vodou (obvykle do  $0,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  při normálních vodních průtocích) a hloubkou 0,1 – 0,5 m. Na vhodném trdlišti samice vytlouká většinou oválné (podle velikosti ryby) až 50 cm dlouhé miskovitě prohloubené třecí hnízdo, kam v několika dávkách klade jikry, které samec současně oplozuje. Vlastní třecí akt probíhá v párech. Při vlastním třecím aktu samice i samec pohybem těla a ocasu víří písek a šterk, který překrývá vytřené jikry. Jikry překryté pískem a šterkem mají tak zajištěny vhodné podmínky pro další vývoj (Baruš *et al.*, 1995).

Délka inkubace jiker závisí na teplotě vody a udává se v tzv. denních stupních ( $^{\circ}\text{D}$ ; ATU (accumulated thermal unit)). Jedná se o sumu průměrných denních teplot vody za dobu inkubace. Obvykle se pro pstruha obecného uvádí hodnoty 500 – 520  $^{\circ}\text{D}$  (Pokorný *et al.*, 1998). Tento počet denních stupňů je obvyklý pokud probíhá inkubace při teplotách vody okolo 3 – 4  $^{\circ}\text{C}$  (Peňáz, 1965). V případě inkubace v teplejší (5 -10  $^{\circ}\text{C}$ ) či v chladnější (0 – 2  $^{\circ}\text{C}$ ) vodě se může počet denních stupňů za inkubační dobu významně snižovat (Podubský, 1958; Baruš *et al.*, 1995).

Údajů týkajících se počtu jiker (absolutní plodnosti) pstruha obecného existuje značné množství. Obecně lze říci, že počet jiker je závislý především na velikosti ryb. U menších jedinců se počet jiker zvyšuje přibližně lineárně s rostoucí velikostí samic. Například při délce

řeky: u délek 150 mm dosahuje absolutní plodnost 100 – 150 jiker, při délce 200 mm je to 150 – 300 jiker, při délce 250 mm je to již 850 jiker (Pekárková, 1956a; Lusk, 1968a; Bagenal, 1969; Lobon-Cervia *et al.*, 1997). L'Abée-Lund *et Hinder* (1990) prokázali v norských tocích významnou pozitivní závislost mezi délkou těla a absolutní plodností v rámci všech 9 ledovaných populací pstruha obecného. Garcia *et Brana* (1988) studovali reprodukční biologii pstruha obecného na přítocích řeky Aller (severní Španělsko). Absolutní plodnost se pohybovala v rozmezí 160 – 761 jiker a vzrůstala s velikostí samic.

Do značné míry je počet jiker ovlivněn také úživností toku a přítomností dalších druhů ryb. McFadden *et al.* (1965) uvádějí, že pstruzi pocházející z neúživných podmínek pohlavně dospívají později a produkovali méně jiker v porovnání s jedinci z úživných toků. Tato skutečnost je důležitá pro udržení rovnováhy v méně úživném prostředí. L'Abée-Lund *et Hinder* (1990) uvádějí, že méně jiker ale větší velikosti bylo nalézáno u populací pstruhů obecných žijících v přítomnosti dalších druhů ryb. Pender *et Kwak* (2002) na základě porovnání plodnostních ukazatelů, kondice, kvality vody, hustoty obsádky, dostupnosti potravy, výživy, predace a vzájemných interakcí mezi 4 lokalitami nacházejícími se na White River (Arkansas, USA) prokázali, že v lokalitě, ve které byla zjišťována nižší úroveň plodnosti a kondice, byla nižší i úspěšnost reprodukce.

Relativní plodnost samic pstruha obecného se v našich podmínkách pohybuje obvykle v rozmezí 2 000 – 3 000 ks.kg<sup>-1</sup> hmotnosti těla samice (Baruš *et al.*, 1995; Smíšek, 1953; Lusk, 1968b; Pekárková, 1956b). Relativní plodnost obvykle klesá s rostoucí velikostí samic (Garcia *et Brana*, 1988; Lobon-Cervia *et al.*, 1997).

Velikost jiker pstruha obecného obvykle kolísá v rozmezí 4,0 – 6,0 mm, přičemž s velikostí samic se zvyšuje i velikost jiker (Pekárková, 1956a; Lusk, 1968a, 1968b; Bagenal, 1969; Taube, 1976; Garcia *et Brana*, 1988; L'Abée-Lund *et Hinder*, 1990).

Koncentrace spermií ve spermatu samců pstruha obecného se obvykle pohybuje v rozmezí 13 – 36.10<sup>6</sup>.mm<sup>-3</sup>, přičemž s rostoucí velikostí samců koncentrace spermií obvykle klesá. Spermie jsou pohyblivé pouze po dobu několika desítek sekund (Dyk *et al.*, 1956; Linhart, 1984; Poole *et Dillane*, 1998; Pokorný *et al.*, 1998).

### 3.1.7 Význam

Pstruh obecný je hospodářsky významným a i sportovně nejvíce ceněným druhem tzv. pstruhových (lososových) vod ČR. Od 80. let však dochází ke snižování jeho úlovků (Pokorný *et al.*, 2003; statistiky ČRS Praha, statistiky MRS Brno; Vostradovský *et Ličko*, 2005).

Spurný (2002) tuto skutečnost dává především do souvislosti s nedodržením zásad řádného obhospodařování rybářských revírů, což však také souvisí s nedostatkem vhodného násadového materiálu na českém trhu. Podle názoru Luska *et al.* (2005) je pokles úlovků pstruha obecného i lipana podhorního výsledkem působení více faktorů, které v některých vodách působí souběžně, v některých případech se mohou uplatňovat velmi specifické vlivy. Za významné faktory, které ovlivnily úlovky těchto druhů ryb v České republice v posledních letech, autoři považují změny podmínek rybolovu (např. zvýšení minimálních lovných délek, snížení kusového limitu ponechaných ryb, omezení doby a způsobů lovu, atp.); změny trofických podmínek ve vodních tocích v důsledku snížení znečištění živinami; původ násad pro zarybňování, kdy stále výraznější podíl tvoří u pstruha obecného a zejména u lipana podhorního násady získané z intenzivního odchovu, které se vyznačují sníženou adaptabilitou v přírodním prostředí; významný nárůst objemu násad pstruha duhového; přerybňování, jehož důsledkem je destrukce teritoriálního uspořádání populace pstruha obecného, pomalý růst a následně i nedostatek lovuschopných – mírových jedinců; predáční vliv různých obratlovců (zejména kormorána velkého a vydry říční, místně pak i norka amerického, volavky popelavé); atp.

Působení rybích predátorů považuje za významný faktor způsobující úbytek lososovitých ryb v našich vodách řada autorů. Spurný (2003a) popisuje vliv predátorů na rybí společenstva pstruhových vod. Lusk *et al.* (2003) uvádějí, že kormorán velký zdevastoval po roce 1995 populace lipana podhorního a z části i pstruha obecného v toku Dyje mezi údolní nádrží Vranov a údolní nádrží Znojmo. Silný predáční tlak kormorána velkého a jeho vliv na rybí společenstva Dyje a Bečvy popisuje také Spurný (2000, 2003b). Mareš *et al.* (2003) analyzovali dopad nepřiměřeného výskytu vydry a kormorána na hospodaření na revírech MRS.

Slavík (2005) upozorňuje na nedostatečnou ochranu rodičovské generace (tzv. generačních ryb) a příliš vysoké kvóty představující možný denní úlovek. Autor rovněž varuje před zvýšeným vysazováním intenzivně odchovaných násad do volných vod.

Jak již bylo řečeno v úvodu práce, za velice významný negativní faktor ve vztahu k populacím pstruha obecného a lipana podhorního je možno považovat nešetrné úpravy toků způsobující ztrátu jejich členitosti a snížení úkrytové kapacity (Čermák, 2002; Harsányi *et al.* 2002; Lusk *et al.* 2005; Slavík, 2005).

Znečištění vod organickými látkami, v jehož důsledku často v minulosti docházelo k havarijním úhynům ryb následkem kyslíkových deficitů a otrav amoniakem, již z důvodu plošného budování čistíren odpadních vod není jednou z hlavních příčin úbytku lososovitých

ryb v našich tocích. Paradoxně právě v důsledku nižšího přísunu organických látek do toků dochází k poklesu jejich úživnosti, což může populace ryb také negativně ovlivňovat (Harsányi *et* Aschenbrenner, 2002; Lusk *et al.* 2005). Aktuálním problémem však stále zůstávají různé cizorodé látky kontaminující vodní ekosystémy, z nichž mnohé mají i významné účinky na vodní organismy (viz kapitola 3.3.5).

## 3.2. LIPAN PODHORNÍ (*THYMALLUS THYMALLUS* L.)

### 3.2.1 Rozšíření

Rod lipan – *Thymallus* (Cuvier, 1829) je rozšířen v holoarktické oblasti světa a jeho příslušníci vedle střední a severní části Evropy osidlují severní část Asie a Severní Ameriku (Lusk *et al.*, 1987). Pivnička *et* Hensel (1978) charakterizovali v rámci rodu 5 druhů: *T. thymallus* (Evropa, Sibiř, Aljaška, Kanada), *T. brevirostris* (severozápadní Mongolsko), *T. baicalensis* (Bajkal), *T. grubei* (povodí Amuru), *T. nigrescens* (jezero Chövsgöl-Kosogol, Mongolsko).

Lipan podhorní (*Thymallus thymallus* L.) se vyskytuje téměř po celém evropském kontinentu včetně jeho severských oblastí. Původní areál výskytu lipana byl především v minulém století rozšířen v důsledku umělého vysazování. Přestože se místy vyskytuje v hojných počtech, postupně se začíná počítat k ohroženým druhům (Persat *et* Eppe 1997; Uiblein *et al.*, 2001) a byl rovněž zařazen mezi ohrožené druhy Evropy (Lelek, 1984). Gross *et al.* (2001) na základě analýzy genetických markerů prokázali, že se populace lipana podhorního vyskytující se v povodích Mohanu, Dunaje a Labe významně geneticky liší. Na základě tohoto zjištění autoři varují před neuváženými převozy násadového materiálu mezi těmito povodími, které by mohly negativně ovlivnit genetickou diverzitu jednotlivých populací.

Lipan podhorní patřil k původní ichtyofauně našich toků, o čemž svědčí záznamy již ze středověku (Dyk, 1983). Výskyt lipana podhorního v ČR zaznamenal v průběhu doby značné proměny, přičemž v minulém století došlo k jeho významnému rozšíření prakticky do většiny vhodných biotopů a stal se významným a rybářsky oblíbeným druhem našich toků (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).



## 2.2 Popis

Lipán podhorní (*Thymallus thymallus* L.) dorůstá obvykle 35 – 40 cm (celková délka) hmotnosti do 1 kg, výjimečně délky až 60 cm a hmotnosti do 2,5 kg. Za optimální hustotu osádky lipana podhorního (při úměrném zastoupení jednotlivých věkových skupin) v tocích výskytem pstruha obecného lze považovat 300 – 800 ks na 1 ha vodní plochy. V tocích, kde je nízký stav pstruha obecného, může být osádka i dvojnásobná (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

Lipán podhorní je v našich vodách posuzován jako ryba krátkověká, dožívající se průměru věku 3 – 5 let, jedinci vyššího věku jsou málo početní. Tato skutečnost je spojena poměrně vysokou povýtěrovou mortalitou generačních ryb (cca 30 %) a také se silným rybářským tlakem. Průměrný věk zjišťovaný v rámci populací jednotlivých toků obvykle vzrůstá s velikostí toku (Kupka, 1967; Lusk *et al.*, 1987).

Z hlediska růstu je lipán hodnocen jako poměrně rychle rostoucí ryba. Růstové projevy jsou však silně ovlivněny vnějšími podmínkami. Jako nejvýznamnější faktor se uplatňuje vlastní vodní prostředí, ve kterém lipán žije, zejména velikost a mohutnost vodního toku, hydrologický režim v průběhu roku, bohatost potravní nabídky, atp. Uplatňují se i vlastní biologické vlastnosti jedince. V prvních letech života je vyšší růstová intenzita u délkového rozměru než hmotnosti, v pozdějších letech je tomu naopak. Nejrychlejší růst lipana byl zjištěn ve větších tocích a nádržích, v malých tocích byl růst pomalejší. V našich vodách lipán v prvním roce života obvykle dosahuje (v závislosti na podmínkách) celkové délky 100 – 150 mm, ve druhém roce 180 – 250 mm, ve třetím roce 250 – 300 mm, ve čtvrtém roce 280 – 350 mm (Balon, 1953; Nieslanik, 1963; Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

Tělo lipana podhorního je protáhlého torpédovitého tvaru. Tvar těla, zejména pak výška, je ovlivněn prostředím, v němž dlouhodobě žijí populace tohoto druhu. Celé tělo je pokryto středně velkými šupinami. Nápadná je mohutná hřbetní ploutev, která je obvykle pestře zbarvena. Hřbetní ploutev samců se obvykle vyznačuje protáhlými posledními měkkými paprsky, u samic jsou tyto paprsky kratší a zadní část hřbetní ploutve je zakulacená. Mezi hřbetní a ocasní ploutví je tuková ploutev, ocasní ploutev je hluboce vykrojená, prsní a břišní ploutve jsou v normálním postavení jako u lososovitých ryb. Z hlediska plastických a meristických znaků vykazuje lipán v oblasti svého rozšíření malou vnitrodruhovou variabilitu (Baruš *et al.*, 1995).

Celkové zbarvení mladých jedinců lipana podhorního je stříbřité, hřbet šedostříbřitý, boky světlejší, břicho bílé. Na bocích, zčásti i na hřbetu má část mladých exemplářů

inědošedé až nazelenalé tmavší příčné větší skvrny. Hřbetní ploutev je u mladých jedinců šedá s hnědými až tmavými skvrnami, ostatní ploutve jsou slabě šedé až nažloutlé. U pohlavně dospělých jedinců je hřbet tmavě šedozelený až do modra, na bocích intenzita zbarvení klesá, zbarvení je šedomodré, šedozelené, u některých i žlutozelené s měděným nádechem. Břišní část je obvykle stříbřitě šedá, břicho bílé, někdy jemně nažloutlé. Skřele jsou nafialovělé. Za hlavou, na hřbetě a na bocích jsou u jednotlivých lipanů různě rozmístěné černé skvrny nepravidelných ostrých tvarů. Jejich rozmístění je individuálně charakteristické. Zbarvení lipana má proměnlivý duhový lesk, který je způsoben fluoreskovaním. Podílí se na něm vrstva slizu pokrývající celé tělo i ploutve. Vlastní zbarvení lipana je velmi proměnlivé a charakteristické pro lipany jednotlivých řek (zelenavé, stříbřité s fialovým leskem, hnědavé, bronzové). V době tření se u pohlavně dospělých jedinců intenzita zbarvení zvýrazní (Baruš *et al.*, 1995).

### 3.2.3 Nároky na prostředí

Lipan podhorní náleží ke skupině ryb studenomilných. Jeho výskyt je také především limitován kvalitou vody, teplotními maximy a dostatečným obsahem kyslíku. Za optimální rozmezí teplot vody v případě tohoto druhu lze považovat 10 – 20 °C. Za letální je možno považovat teploty vody dlouhodobě překračující 25 °C. V porovnání se pstruhem má lipan větší přizpůsobovací schopnost i větší rozpětí ekologické valence. Často se vyskytuje i v podmínkách mírného organického znečištění vody (Lusk *et al.*, 1987; Northcote, 1995). Optimální úrovně dalších parametrů charakterizujících vodní prostředí (pH, kyslík, CHSK<sub>(Mn)</sub>, BSK<sub>5</sub>) jsou obdobné jako u pstruha obecného (Svobodová *et al.*, 1987; Čítek *et al.*, 1997).

Původním a charakteristickým prostředím lipana podhorního jsou vodní toky podle Fričovi klasifikace doplněné Bornem označovány jako tzv. lipanové pásmo. Hojně se vyskytuje i v pásmu pstruhovém a parmovém. Lipan našel v řadě případů vhodné podmínky v některých menších údolních nádržích. V našich podmínkách lipan obývá středně velké vodní toky. Vyskytuje se především v úsecích, kde se střídá proud na mělkých prazích s klidnější hlubší vodou. Preferuje kamenito-šterkovitý a písčítý substrát dna. Z hlediska stanoviště lipanovi vyhovují nekrytá otevřená místa v proudící vodě. Na rozdíl od pstruha obecného lipan nevyžaduje úkryty. S narůstající velikostí vyhledává stanoviště s hlubší a proudivější vodou (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

### 3.2.4 Chování

Lipán podhorní žije společensky ve větších či menších skupinkách. Hejna jsou obvykle tvořena přibližně stejně velkými jedinci. Menší ryby (plůdek, roček) vytváří početnější skupiny, starší se sdružují do hejn v počtu obvykle 5 – 15 jedinců. Pouze největší exempláře žijí samotářsky a brání své stanoviště. V průběhu roku se lipán obvykle zdržuje v poměrně krátkém úseku toku (100 – 200 m). Významnější migrace podnikají zpočátku mladí jedinci při vyhledávání vhodného stanoviště a pohlavně dospělí jedinci v období reprodukce (Lusk *et Skácel*, 1978; Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995; Northcote, 1995).

### 3.2.5 Potrava

Lipán podhorní je typickým bentofágem. Hlavní složku potravy tvoří především larvální stadia vodního hmyzu (nejvíce jepice, chrostíci, pakomáři), dále se jako potrava uplatňují pošvatky, koryši, červi a měkkýši (kamomil). Podíl jednotlivých složek potravy se mění v závislosti na ročním období. Pro plůdek představují hlavní zdroj potravy planktonní organismy (Hellawell, 1971; Lusk *et Skácel*, 1978; Scott, 1985; Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995; Northcote, 1995).

Jelikož se pstruh obecný a lipán podhorní vyskytují ve většině toků společně, je často diskutována otázka jejich vzájemné potravní konkurence. I když se složky potravy obou druhů do jisté míry překrývají, nelze vždy jednoznačně hovořit o potravní konkurenci (např. při nadbytku potravy) (Lusk *et al.*, 1987). Významnou roli hraje také do jisté míry odlišné prostorové rozmístění těchto druhů v toku (Northcote, 1995). Woodland (1988) prokázal, že pstruh v nepřítomnosti lipana vykazoval lepší růstové schopnosti než v jeho přítomnosti. V případě, že se vyskytovaly oba druhy, byla však celková produkce biomasy lososovitých ryb významně vyšší. Lusk *et Skácel* (1978) nezjistil významné rozdíly v abundanci a biomase lipana v úsecích s přítomností pstruha obecného a bez jeho přítomnosti. Podíl suchozemských organismů v potravě lipana podhorního je obecně nižší v porovnání se pstruhem obecným, přičemž u pstruha se podíl suchozemských složek s věkem zvyšuje, u lipana se naopak snižuje (Northcote, 1995). Lusk *et al.* (1987) konstatují, že přes větší či menší shodu potravního spektra lipana podhorního a pstruha obecného nedochází ve většině našich toků v důsledku dostatečného množství přirozené potravy ke vzniku významného konkurenčního vztahu mezi oběma druhy. Společný výskyt obou druhů považuje za optimální kombinaci skladby rybiho osídlení, která umožňuje lepší využití potravní nabídky a vede k vytvoření vyšší produkce.

### 3.2.6 Rozmnožování

Lipán podhorní v našich vodách dospívá ve věku 2 – 4 let, přičemž nástup pohlavní dospělosti v rámci jedné populace bývá zpravidla o rok dříve než u samic (Balon, 1962; Lusk *et al.*, 1987). Lusk *et al.* (1987) uvádějí, že nástup pohlavní dospělosti závisí na růstu a vývoji jedince a také na průměrném věku, kterého se populace v konkrétních životních podmínkách dožívá. Nástup pohlavní dospělosti u lipana podhorního ve věku 3- 4 let je také popisován u norských a finských populací (Northcote, 1995). Poměr pohlaví bývá obvykle vyrovnaný (Lusk *et al.*, 1987).

V našich podmínkách obvykle probíhá tření v druhé polovině dubna a v první polovině května. Jeho počátek ovlivňuje především teplota vody v závislosti na nadmořské výšce a průběhu počasí. Teplota vody v období výtěru se pohybuje okolo 7 – 10 °C. Na místa tření podnikají lipani kratší migrace směrem proti proudu (Ovidio *et al.*, 2004), délka těchto migrací však obvykle nepřesahuje 1 km (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995). Ryby obvykle migrují z klidnějších partií do rychleji tekoucích úseků toku, případně do přítoků a v případě, že se populace vyskytuje v nádrži, v období výtěru ryby migrují do jejího přítoku (Balon, 1962; Witkowski *et Kowalewski*, 1988; Northcote, 1995).

Na trdliště migrují obě pohlaví většinou společně, někdy samci o něco dříve než samice. Vlastní trdliště obsazují nejdříve samci, kteří zaujímají a brání tzv. třecí okrsky (Baruš *et al.*, 1995). Na trdlištích s členitým dnem jsou třecí okrsky jednotlivých samců menší než na trdlištích méně členitých. Větší samci mají okrsek větší než menší jedinci. Vybraný prostor bývá velký 0,5 – 2,0 m<sup>2</sup> a každý samec si jej brání proti ostatním rybám (Lusk *et al.*, 1987; Fabricius *et Gustafson*, 1955). Vlastní trdliště se nachází většinou na místech s proudivou vodou (obvykle 0,3 – 0,7 m.s<sup>-1</sup>), výška vodního sloupce se obvykle pohybuje v rozsahu 0,3 – 0,6 m. Dno trdliště je tvořeno šterkem, drobnými oblázky a pískem (Gönczi, 1989; Northcote, 1995; Baruš *et al.*, 1995).

Výtěr probíhá v denních hodinách, přičemž nejvyšší intenzity dosahuje v průběhu denních teplotních maxim (Maitland *et Campbell*, 1992). Vlastní tření probíhá v párech, když dozralá samice vyplouvá na trdliště, kde se s čekajícím samcem v jeho třecím okrsku vytírá (Baruš *et al.*, 1995). Při vlastním tření samice vypouští jikry na dno trdliště a samec vypouští mlíčí. Ryby se vzájemně dotýkají a svými pohyby zviřují dno, čímž dochází k částečnému zakrytí jiker (Fabricius *et Gustafson*, 1955). Samice se vytírá v průběhu 2 – 3 dnů v několika dávkách postupně s více samci (Lusk *et al.*, 1987). Průběh tření lipana je značně závislý na klimatických podmínkách. Za příhodných podmínek proběhne výtěr lipana na trdlišti v průběhu 2 – 5 dnů, za méně příhodných podmínek může být protaženo na 6 – 12 dnů.

v rámci jednoho toku bývá období tření časově posunuto (zpožděno) směrem proti proudu, takže v rámci jednoho toku může tření v extrémních případech probíhat i 3 – 4 týdny (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

Délku inkubace jiker Nieslanik (1957) udává okolo 220 °D, Maitland *et al.* (1992) uvádějí 180 – 200 °D, Carmie *et al.* (1985) udávají inkubační dobu 200 °D při teplotě vody 8,5 °C a 220 °D při teplotě vody 9,0 °C. Na základě laboratorního pokusu Harsányi *et al.* (2002) zjistili, že optimální teplota vody pro vývoj jiker se pohybuje v rozmezí 8 – 12 °C. V tomto rozmezí teplot byl počet odumřelých jiker a deformovaných larev nejnižší a zároveň byla dosažena i optimální velikost larev.

Lusk *et al.* (1987) uvádějí, že absolutní plodnost parabolicky roste s velikostí samice, např. samice o délce těla 200 mm mají průměrnou absolutní plodnost 1 500 – 2 000 jiker, samice o délce 250 mm 2 000 – 2 500 jiker, při délce 300 mm 3 000 – 3 500 jiker, při délce 350 mm 6 000 – 7 000 jiker a při délce 400 mm již se plodnost pohybuje v rozmezí 12 000 – 15 000 jiker. Relativní plodnost se rovněž zvyšuje s rostoucí velikostí samic, ne však tak výrazně jako absolutní plodnost. Průměrná relativní plodnost zjištěná u samic z různých toků se pohybuje v rozmezí 10 000 – 15 000 jiker na 1 kg hmotnosti samice (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

Jikry lipana jsou středně velké, průměrná velikost čerstvě vytřených jiker je 2 – 3 mm, po nabobtnání se jejich průměr zvětší na 3 – 3,5 mm. Barva jiker je v závislosti na obsahu karotenoidů velmi rozmanitá, od různých odstínů žluti až po oranžově či sytě pomerančově červené barvy (Lusk *et al.*, 1987). Spermie lipana jsou pohyblivé maximálně pod dobu 1 – 2 minut (Baruš *et al.*, 1995).

Velikost vylíhlých jedinců se pohybuje od 10 – 12 mm (Maitland *et al.*, 1992) do 15 – 18 mm (Peňáz, 1975; Northcote, 1995). D'Hulstere *et al.* (1982) zjistili, že vylíhlé larvy zůstávají ve štěrkovém substrátu po dobu 5 – 10 dnů. Bardonnnet *et al.* (1990a, 1990b) zjistili, že na rozdíl od většiny ostatních říčních salmonidů plůdek lipana opouští úkryty ve dne, nejvíce krátce po východu slunce. Podle názoru těchto autorů se dosud nedokonalé larvy ve dne lépe orientují a mohou tak omezit poproudový drift. Intenzivnější drift larev lipana zaznamenali Bardonnnet *et al.* (1993) v noci. Na základě dlouhodobého výzkumu lipanových pásem v Německu Harsányi *et al.* (2002) zjistili, že juvenilní lipan preferuje mělká, mnohdy až nad 20 °C teplá vedlejší ramena a zátoky proudů. Dále tito autoři uvádějí, že v tomto stadiu vývoje je mladý lipan flexibilní jak ve vztahu k teplotě, tak i ve vztahu k okysličení vody.

Velký vliv na úspěšnost reprodukce lipana mají vnější podmínky. K velkým ztrátám dochází již v průběhu inkubace jiker především v důsledku velkých vodních průtoků, při nichž často dochází k zanášení jiker jemným substrátem a k následným úhynům jiker. Ztráty mohou vznikat i konzumací jiker jinými rybami a také v důsledku brodění při sportovním rybolovu. K velmi významným ztrátám dochází také po vylíhnutí. Vylíhnutý plůdek je vysoce citlivý na prudké poklesy teploty a v případě, že dojde k náhlému poklesu teploty vody pod 4 °C, dochází k téměř totálnímu úhynu. Silně negativně také působí zvýšené vodní průtoky a nedostatek vhodné přirozené potravy. Početnost jednotlivých ročníků v důsledku těchto faktorů většinou značně kolísá. Vzhledem ke krátkověkosti lipana v našich vodách může (pokud je výsledek přirozeného rozmnožování v důsledku nepříznivých vlivů 2 – 3 roky po sobě prakticky nulový) tento druh z takovýchto toků téměř vymizet (Lusk *et al.*, 1987).

### 3.2.7 Význam

Lipan podhorní patří k dominantním, sportovně a hospodářsky nejvýznamnějším druhům tzv. pstruhových - nyní lososových vod v ČR. Je základem rybářského obhospodařování těchto vod i objektem chovu rybářských organizací (Lusk *et al.*, 1987).

V minulosti došlo v důsledku umělého zarybňování k rozšíření lipana prakticky do všech vhodných toků v ČR. Současně s rozšiřováním lipana několikanásobně vzrostly i jeho úlovky dosažené sportovními rybáři. Jestliže v roce 1960 bylo v Čechách a na Moravě uloveno celkem 5 871 ks o hmotnosti 2 082 kg, v roce 1982 se úlovky dostali na úroveň 89 232 ks a 27 632 kg (Baruš *et al.*, 1995; Pokorný *et al.*, 1999). V důsledku zavedení umělého chovu lipana a vysazování uměle odchovaných násad byl lipan významně rozšířen i v Polsku (Leszek *et al.*, 2000) a na Slovensku (Pavlík, 2000).

V posledních letech, i když došlo k výraznému zlepšení kvality vody v tocích, došlo k poklesu jeho úlovků, a to o 25 – 30 % oproti úrovni v letech 1980 – 1990 (Pokorný *et al.*, 2003; Pokorný, 2000; Vostradovský *et al.*, 2005; statistiky ČRS Praha, statistiky MRS Brno).

Celoplošně lze považovat úlovky za průkazný ukazatel stavu populací (Lusk *et al.*, 2003). Pokles stavů lipana podhorního je ovlivněn řadou faktorů zmíněných již v úvodu práce a v kapitole 3.1.7. Za nejvýznamnější důvod poklesu stavů lipana podhorního v tekoucích vodách považují Harsányi *et al.* (2002) nešetrné úpravy toků, při kterých dochází k odstraňování vedlejších ramen řek sloužících jako přirozená refugia pro juvenilní ryby. Přítomnost těchto refugií na pstruhových tocích je podle těchto autorů klíčová pro úspěšný vývoj plůdku lipana, což je základ přirozené obnovy jeho populací.

## 3 TECHNOLOGIE A MANAGEMENT CHOVU PSTRUHA OBECNÉHO A LIPANA PODHORNÍHO V ČR

### 3.1 Historie umělého chovu pstruha obecného a lipana podhorního v ČR

Chov pstruha obecného a lipana podhorního, jehož podstatu tvoří umělé rozmnožování odchov násad, má v Čechách a na Moravě více než stoletou tradici (Pokorný *et al.*, 2003). Základy umělého rozmnožování lososovitých ryb u nás položil prof. A. Frič. Až do 50. let minulého století byly prováděny převážně umělé výtěry a inkubace jiker. Plůdek byl vysazován obvykle přímo do volných vod. Po roce 1950, kdy došlo k vytvoření jednotné organizace sportovního rybářství a došlo k podstatnému nárůstu zájemců o sportovní rybolov, zrostly požadavky na výrobu násadového materiálu. Byl zaveden systém „odchovných otoků“, který i v současnosti zajišťuje produkci násad pstruha obecného. K rozvoji chovu lipana podhorního došlo zejména po roce 1960, kdy se podařilo zvládnout odchov roček v menších rybníčcích. Díky umělému chovu se z původně řídké se vyskytující ryby stal lipan jedním z hospodářsky nejvýznamnějších druhů v našich vodách (Lusk, 1989).

### 3.3.2 Generační ryby

Nejčastějším způsobem získávání generačních pstruhů obecných je jejich odlov z volných vod (chráněné rybí oblasti; rybářské revíry). V menším množství se získávají z pstruhových rybníků. Pouze výjimečně jsou generační pstruzi chováni v podmínkách umělých chovů, přičemž jsou především využívány nepůvodní intenzivní linie (Italská, Kolowrat) (Pokorný, 1999). Ve volných vodách je vlastní odlov generačních ryb prováděn nejčastěji pomocí elektrických agregátů (Říha, 1986), případně pomocí světla v nočních hodinách. Odlov generačních ryb je prováděn obvykle několik dnů před očekávaným výtěrem. Co nejdříve po odlovu jsou ryby rozděleny podle pohlaví a umístěny do průtočných nádrží nacházejících se v blízkosti líhně. Při zajišťování generačních ryb pro rybí líhně se předpokládá, že k produkci 1 mil. jiker by mělo být k dispozici cca 3 000 kusů samic a několik set kusů samců. Průměrná kusová hmotnost generačních ryb by měla být alespoň 200 g (Pokorný *et al.*, 1998).

V případě lipana podhorního jsou také ve většině případů generační ryby získávány odlovem z volných vod v jarním (předvýtěrovém) období. Jelikož v tomto období dochází často ke zvyšování vodních průtoků je často odlov ryb obtížný, někdy i nerealizovatelný. Odlovy jsou nejčastěji prováděny pomocí elektrického agregátu. Tento způsob je však spojen se značným poškozením v období výtěru vysoce citlivých generačních ryb, což se projevuje

jejich následnými ztrátami. K odlovu generačních ryb jsou někdy také využívána speciální odchyťová zařízení (Lusk *et al.*, 1987).

Při manipulaci s generačními lipany v období umělých výtěrů vznikají obvykle ztráty v rozsahu 10 – 15 %. K významným ztrátám dochází i po vypuštění vytřených lipanů zpět do toku (Lusk *et al.*, 1987). Harsányi *et Aschenbrenner* (2002) konstatují, že v případě odlovu generačních ryb bezprostředně před výtěrem, jejich transportu, hormonální indukce ovulace, vlastního výtěru a vypuštění zpět do toku dosahuje povýtěrová mortalita těchto ryb až 100 %. V případě, že odlovení jedinci nejsou ještě úplně pohlavně dozralí, často v podmínkách umělé líhny již nedojde k dozrání ryb a ryby se nepodaří uměle vytřít (Lusk *et al.*, 1987). Ryšavý (2000) uvádí, že část generačních ryb pro potřeby pstruhového objektu Bečov nad Teplou je z toku odlovována již v podzimních měsících. I u těchto ryb je při umělém výtěru dosahováno vysokého procenta oplozenosti (90 – 95 %).

Z výše uvedených důvodů a v současnosti především také z důvodu nedostatku generačních lipanů podhorních ve volných vodách začínají chovatelé s chovem generačních ryb v kontrolovaných podmínkách. Odchov generačních ryb v kontrolovaných podmínkách probíhá nejčastěji v rybnících a může být jak extenzivní (větší rybníky, nižší hustota obsádky, přirozená potrava) tak polointenzivní na menších nádržích (menší průtočné rybníky, náhony, sádky, atp.) s větší hustotou obsádky a s využitím umělých krmiv. Obsádka generačních lipanů v intenzivních chovech dosahuje 10 – 20 jedinců na 1 m<sup>2</sup> vodní plochy, v extenzivních chovech je to okolo 1 000 ks na 1 ha vodní plochy. Odchované ryby mají velmi dobré reprodukční vlastnosti, dobře a rovnoměrně pohlavně dozrávají, samice dosahují vyšší relativní plodnosti i dobré kvality jiker a to v důsledku péče o zdravotní stav i zabezpečení dostatečného množství kvalitní a plnohodnotné potravy (Lusk *et al.*, 1987).

K intenzivnímu odchovu lze použít betonové kanály, velké kruhové rybníčky, příkopové rybníčky, apod. Výživa je zajišťována převážně granulovanými krmivy, ve kterých by neměl obsah tuku překračovat 12 % (Pokorný *et Kouřil*, 1999). Pavlík (2000) však konstatuje, že kvalita pohlavních produktů intenzivně chovaných generačních ryb je zhoršená, což se projevuje nižší oplozeností jiker (20 – 60 % oplozenost). Leszek *et al.* (2000) uvádějí, že mortalita jiker pocházejících od generačních ryb krměných směsmi pro pstruha duhového a kapra obecného dosahovala 95 – 100 %. Aby se kvalita jiker zlepšila Harsányi *et Aschenbrenner* (2002) doporučují od konce září až do výtěru umělými krmivy nekrmit. Autoři uvádějí, že v případě krmení generačních ryb krmivy pro pstruha duhového až do doby umělého výtěru množství oplodněných jiker nepřesahuje 5 %. V případě zastavení krmení na konci září množství oplodněných jiker dosahuje průměrně 64 %.



### 3.3.3 Umělé rozmnožování

Umělý výtěr pstruha obecného je obvykle prováděn suchou metodou spočívající ve skupinovém výtěru samic do suché nádoby a oplození jiker mlíčem z více samců. Aktivace vlastního oplození jiker je vyvolána přidáním vody. Po promíchání se jikry nechají 2 – 3 min. v klidu, poté jsou propláchnuty a umístěny na inkubační aparáty. U pstruha obecného obvykle není nutno používat hormonální stimulaci. Anestetika jsou využívána při větších velikostech vytíraných ryb. Ihned po výtěru je u generačních ryb doporučováno provést desinfekční koupel proti následnému zaplísnění (např. v roztoku  $\text{KMnO}_4$ ). Jikry jsou inkubovány na plochých aparátech (např. Rückel-Vacek, vložky na žlabech), méně obvyklé je používání inkubačních láhví. Oplozenost jiker je obvykle vyšší než 90 %. V průběhu inkubace jsou jikry ošetřovány protiplísňovými preparáty. Líhivost se pohybuje mezi 80 – 90 % (Pokorný *et al.*, 1998).

Technika umělého výtěru lipana podhorního je v zásadě podobná jako u pstruha obecného. Ve větší míře jsou využívána anestetika a protiplísňové koupele generačních ryb. Přežití ryb po výtěru zvyšuje použití antibiotik. Jelikož poměrně často nedochází v důsledku různých vlivů (teplota vody, stres, atp.) u části samic k ovulaci jiker a období umělých výtěrů je v důsledku nerovnoměrného dozrávání samic značně dlouhé (až několik týdnů), je někdy ke zvýšení počtu ovulujících samic využívána hormonální stimulace (Lusk *et al.*, 1987; Pokorný *et Kouřil*, 1999). Problematikou využití syntetických analogů spouštěcího hormonu gonadotropinu (Gn-RH) k indukci a synchronizaci ovulace jikernaček lipana podhorního se zabývali Kouřil *et al.* (1987a, 1987b), Kouřil *et Barth* (1989). Autoři konstatovali, že při použití optimálních dávek testovaných syntetických přípravků i acetonem odvodněné kapří hypofýzy lze významně zvýšit podíl ovulujících jikernaček z počtu ryb připravovaných k umělému výtěru. Významné rozdíly mezi skupinami jikernaček injikovaných hypofýzou a analogy Gn-RH nebyly pozorovány. Za účelem snížení povýtěrové mortality byla s úspěchem testována injekční aplikace antibiotik a přípravků zvyšujících srážlivost krve (Kupka, 1967; Lusk *et al.*, 1987).

Inkubace oplozených jiker je nejčastěji prováděna v inkubačních láhvích (Kannengieterovy a Zugské láhve). V průběhu inkubace se provádějí protiplísňové koupele. Na dolíhnutí je možno jikry přemístit na ploché aparáty s hustě perforovanými síty (Lusk *et al.*, 1987).

### 3.3.4 Odchov plůdku a násad

Odchov ročků a dvouletých násad pstruha obecného je v našich podmínkách prováděn především extenzivním způsobem, tj. odchovem v odchovných potocích. Jen malá část chovatelů přistupuje k odchovu v uzavřených nádržích. Do odchovných potoků je plůdek vysazován nejčastěji po strávení přibližně 2/3 žloutkového vácku. Praktické zkušenosti pstruhařů s intenzivním odchovem plůdku pstruha obecného v podmínkách umělých chovů při využití kompletních krmných směsí jsou většinou do značné míry negativní. Při tomto způsobu dochází ke značným ztrátám, které jsou způsobeny vlivem parazitárních onemocnění a špatným přivykáním ryb na umělá krmiva. Experimenty zabývající se touto problematikou prováděli Příhoda *et al.* (1989). Autoři při počátečním odchovu plůdku pstruha obecného na Williamsových žlabech používali kombinované krmení kompletní krmnou směsí a vlhkou směsí obsahující slezinu, plankton, žloutek a vitamínovou přísadu. Experimenty probíhaly po dobu 42 respektive 49 dnů. Docházelo k vysokým ztrátám, které byly způsobeny především invazí parazita *Chilodonella cyprini*. Ztráty na jednotlivých žlabech se v průběhu sledovaného období pohybovaly v rozmezí 43,6 – 82,6 % respektive 21,9 – 28,1 %.

Většina chovatelů provádějících odchov plůdku využívá přirozenou potravu (plankton). Plůdek je odkrmován obvykle po dobu 4 – 5 týdnů od počátku přijímání potravy a poté je plůdek vysazován do odchovných potoků (Příhoda *et al.*, 1989).

Odchovné potoky jsou nasazovány plůdkem na dobu 1 roku nebo 2 let. V případě vysazování váčkového nebo pouze rozkrmeného plůdku se výlovek ročků z vysazeného plůdku po uplynutí 1 vegetačního období či 1 roku pohybuje obvykle kolem 12 – 14 %, přičemž velikost ročků je 7 – 11 cm. V případě, že jsou potoky loveny ve dvouletém cyklu, je obvykle vyloveno 9 – 12 % dvouleté násady o velikosti 12 – 17 cm. Tento způsob hospodaření je celkem nenáročný a vyhovuje většině dobrovolných rybářských organizací (Kavalec, 1989). Jako velice perspektivní se jeví systém, kdy je do odchovných potoků vysazován uměle odchovaný čvrtroček (Nieslanik, 2005). Autor uvádí, že při tomto systému je možno do odchovných potoků vysazovat přibližně pouze pětinné množství čvrtročka (o velikosti 4,5 – 6 cm) v porovnání s množstvím vysazovaného plůdku. Procento návratnosti  $P_{O_2}$  se pohybuje okolo 50 %. Velikosti takto odchovaných ročků a dvouročků jsou přibližně o 10 – 15 % větší v porovnání s klasickým systémem. Je tedy možné do revírů vysazovat již ročka.

V malé míře se u nás uplatňuje odchov ročků ve žlabech a zemních rybníčcích. Tento systém je podobný intenzivnímu chovu pstruha duhového. Je často spojen s poměrně vysokými ztrátami, což výrazně snižuje jeho rentabilitu. Krmení probíhá obvykle od května

do konce září, kdy se loví roček o velikosti 7 – 9 cm. Z odkrmeného plůdku vysazeného do zmíněných nádrží se loví 13 – 20 % ročků (Kavalec, 1989; Pokorný *et al.*, 1998).

Odchov plůdku a násad lipana podhorního probíhá v našich podmínkách ve srovnání se pstruhem obecným intenzivnějším způsobem. Plůdek je v období 3 – 5 dnů po vykulení vysazován do odchovných nádrží s dostatkem přirozené potravy (planktonu) nebo odkrmován na žlabech. V prvních fázích odchovu bylo v minulosti ke krmení prakticky nezbytné používat zooplankton, který bylo možno později nahradit krmnými směsmi (Lusk *et al.*, 1987; Carlstein, 1997). V současnosti již se objevují směsi umožňující úspěšný odchov plůdku lipana bez použití přirozené potravy (Luczynski *et al.*, 1986; Carmie *et Jonard*, 1988; Carlstein, 1993).

Odchov násad lipana (tj. rychlený plůdek o délce 3 – 5 cm, půlroček v délce 7 – 9 cm, roček v délce 12 – 18 cm) se realizuje v podstatě třemi následujícími způsoby:

- a) extenzivní odchov v přirozeném prostředí chovných potoků
- b) polointenzivní odchov v nádržích (nejčastěji v rybnících) spočívající na přirozené potravě případně i příkrmování
- c) intenzivní odchov v malých rybníčcích, náhonech, příkopových rybníčcích, korytech apod. (Lusk *et al.*, 1987; Adámek *et al.*, 1989)

### 3.3.5 Zdravotní problematika v chovech pstruha obecného a lipana podhorního

O úspěšnosti a efektivnosti chovu pstruha obecného a lipana podhorního rozhoduje celá řada faktorů. Pstruh obecný i lipan podhorní jsou podobně vnímaví k většině onemocnění, která postihují lososovité ryby (Kolářová, 2000).

Nejnebezpečnějšími onemocněními vyskytujícími se v chovech lososovitých ryb jsou virová onemocnění (Čítek *et al.*, 1997; Navrátil *et al.*, 2000). Těmito onemocněními se zabývá i naše legislativa. Zákon č. 286/2003 Sb. o veterinární péči ukládá chovatelům povinnost při dodávání na trh vyšetřovat lososovité ryby a jikry na nebezpečné nákazy [infekční nekróza krvetvorné tkáně (IHN), infekční nekróza pankreatu (IPN), virová hemoragická septikémie (VHS), infekční anémie lososů (ISA)]. Přehled, charakteristiku, diagnostiku a možnosti terapie nejčastějších onemocnění vyskytujících se v chovech lososovitých ryb uvádějí Čítek *et al.* (1997) a Navrátil *et al.* (2000). Jako nejčastější nakažlivá onemocnění vyskytující se v našich chovech autoři uvádějí různé druhy mykóz vyskytujících se jak u jiker tak u ryb; z bakteriálních onemocnění se jedná především o furunkulózu lososovitých, bakteriální onemocnění žaber, bakteriální rozpad ploutví; z parazitárních onemocnění jsou to z protozoóz především ichtyobodóza, hexamitóza,

hilodonelóza, ichtyoftirióza a z helmintóz monogeneózy (hlavně *Gyrodactylus* sp.). Mezi  
ejčastější nenakažlivá onemocnění autoři řadí různá mechanická poškození ryb, přičemž  
oporučují při veškerých manipulacích s rybami postupovat šetrně, využívat anestetik a  
esinfekčních koupelí, dále různá poškození a otravy vyvolané změnami fyzikálně-  
hemických faktorů prostředí (např. teplota vody, kyslík, pH, vodivost vody, působení  
oxických látek) a také choroby vyvolané v důsledku zkrmování nekvalitních krmiv  
aflatoxikóza, ceroidní degenerace jater, hypovitaminózy a avitaminózy). Velmi významné  
tráty v chovech ryb můžou způsobovat i rybí predátoři (vydra, volavka, kormorán, ledňáček,  
acek). Pokud je to technicky a majetkoprávně možné, je nutno odchovný areál, případně  
ednotlivé nádrže pečlivě oplotit. Vhodné je zakrýt nádrže bariérou (sít, hustě natažené  
rovázky, lehké přístřešky, atp.) proti rybožravým ptákům (Pokorný *et* Kouřil, 1999).

Velmi často jsou v rámci managementu chovu pstruha obecného a lipana podhorního  
využívány generační ryby pocházející z volných vod. Významným faktorem ovlivňujícím  
zdravotní stav generačních ryb žijících v tocích a následně i kvalitu jejich pohlavních  
produktů je i přítomnost cizorodých látek ve vodním prostředí. Důsledkem industriálního  
rozvoje se během dvacátého století dramaticky zvýšilo množství chemických látek  
kontaminujících životní prostředí. V současné době je běžně používáno přibližně 80 000  
chemických látek a každý rok se toto množství zvyšuje o dalších 1 000. Z toho vyplývá, že  
odpadní vody, ať už průmyslové nebo komunální, jsou i přes stále dokonalejší technologie  
čištění velice komplexní směsí používaných chemických látek (Sumpter, 1998).

Významnou skupinou látek vyskytujících se v odpadních vodách jsou tzv. endokrinní  
disruptory (Endocrine Disrupting Chemicals - EDCs). Endocrine Disrupting Chemicals  
(EDCs) jsou syntetické nebo přirozeně se vyskytující chemikálie, které již v minimálních  
koncentracích ovlivňují rovnováhu normálních hormonálních funkcí u živočichů. Poškození  
endokrinního systému ryb může ve svém důsledku způsobit i poruchy jejich reprodukce  
(Tyler *et al.*, 1998). Do této skupiny látek patří především klasické chlorované insekticidy,  
syntetické pyrethroidy, účinné látky herbicidů a průmyslové chemické látky (PCB, PAH,  
ftaláty, styreny, Hg a další) (Keith, 1997), steroidní léčiva a jejich metabolity (Kolpin, 2002;  
Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Hanselman *et al.*, 2003; Dorabawilla *et* Gupta, 2005),  
degradační produkty neionogenních tenzidů (alkylfenoly) (Bennie *et al.*, 1997; Jonkers *et al.*,  
2003; Lye *et al.*, 1999; Dussault *et al.*, 2005; Li *et* Wang, 2005), tzv. „musk“ sloučeniny  
(syntetické analogy pižma plošně používané jako vonné esence v širokém sortimentu  
spotřebního zboží) (Yamagishi *et al.*, 1981; Rimkus *et al.*, 1997; Balk *et* Ford, 1999; Fromme  
*et al.*, 2001), atp. Jako biochemické parametry stanovené u ryb indikující zatížení vodního

prostředí (tzv. biochemické markery kontaminace) EDCs se využívají koncentrace tzv. vitellogeninu a steroidních hormonů v krevní plazmě (Sumpter *et Jobling*, 1995; Karels *et al.*, 2001; Hecker *et al.* 2002). Vitellogenin je lipofosfoprotein syntetizovaný vlivem steroidního hormonu estradiolu v játrech samic. Pokud se ve vodním prostředí vyskytnou kontaminující látky s estrogením účinkem, pak syntéza vitellogeninu probíhá i v játrech samců. To může vést až k degenerativním změnám pohlavního ústrojí samců a k poruchám reprodukce (Schwaiger *et Negele*, 1998). Přítomnost vitellogeninu v krevní plazmě samců tedy indikuje výskyt těchto látek ve vodním prostředí (Sumpter *et Jobling*, 1995; Hansen *et al.*, 1998).

Typickým příkladem zatížení vodního prostředí látkami způsobujícími poruchy endokrinních funkcí ryb v ČR je řeka Tichá Orlice, levostranný přítok řeky Labe. Na lokalitách pramenné oblasti této řeky a jejího přítoku Kralického potoka byli v minulosti odlovováni generační pstruzi obecní a lipani podhorní a byli využíváni k umělé reprodukci. Na konci 80. let minulého století byly u ryb z této lokality opakovaně dosahovány špatné výsledky umělé reprodukce a začalo se pátrat po příčinách tohoto stavu. Jednou z potenciálních příčin byla i možnost kontaminace vodního ekosystému látkami, které mohly poruchy reprodukce vyvolávat. Monitoring kontaminace horního toku Tiché Orlice byl poprvé prováděn Kredlem *et al.* (1989). Autoři prostřednictvím analýz svaloviny pstruhů obecných prokázali zvýšené zatížení sledovaných lokalit PCB. Další sledování probíhala v období 1993 – 1998 (Lusková *et al.*, 1997; Svobodová *et al.*, 1999). Bylo prokázáno, že sledované lokality byly významně kontaminovány rtutí, PAH a perzistentními organochlorovanými polutanty (PCB, OCS, DDT a jeho metabolity, HCB, HCH). Prakticky veškeré tyto látky patří do skupiny EDCs (Keith, 1997) a jejich zvýšené koncentrace tedy mohly být příčinou reprodukčních poruch u generačních ryb odlovovaných v těchto lokalitách.

# ADAPTABILITA UMĚLE ODCHOVANÝCH NÁSAD V PŘÍRODNÍCH DMÍNKÁCH A JEJICH VLIV NA PŮVODNÍ POPULACE

## 1.1 Potenciální interakce mezi uměle odchovanými a původními populacemi

Doplňování obsádek lososovitých ryb v tocích je v současnosti prováděno stále ve větší míře násadami pocházejícími z umělých chovů (Cowx, 1994). Jedním z významnějších důvodů vysazování lososovitých ryb je uspokojení potřeb sportovních rybařů (Cresswell, 1981). Např. L'Abée-Lund (1991) uvádí, že v Norsku je pstruh obecný více vysazovanou rybou do volných vod (více než 3 mil. ks ročně). Mezi vysazenými uměle odchovanými a původními volně žijícími rybami může docházet ke vzájemným interakcím, např. ke konkurenci (Nickelson *et al.*, 1986; McMichael *et al.*, 1997, 1999), parazitaci (Sholes *et al.*, 1979), anomáliím v chování (Sundström *et al.*, 2003; Deverill *et al.*, 1999) a k různým patogenním interakcím (Coutant, 1998; Moffit *et al.*, 1998). Zpochybnuté programy využívající intenzivně odchované ryby jsou pro své rozporuplné výsledky často kritizovány a především z důvodu nízkého přežití a špatných výsledků reprodukce vysazených ryb je zpochybňována jejich účelnost (L'Abée-Lund, 1991; Einum *et al.*, 2001). Dále je argumentováno možným významným vlivem introdukovaného geneticky neadaptabilního materiálu na původní populace (Allendorf *et al.*, 1980; Ryman *et al.*, 1980; Hindar *et al.*, 1991; Saunders, 1991; Waples, 1991). Hodnocení adaptability uměle odchovaných násad v přírodních podmínkách a hodnocení vlivu těchto násad na původní populace je prováděno prakticky od poloviny minulého století (Fleming *et al.*, 1961). Ve většině do současné doby publikovaných prací autoři konstatují, že přežití a růst vysazených uměle odchovaných ryb je nižší v porovnání s volně žijícími rybami (např. Miller, 1953, 1958; Reimers, 1963; Vincent, 1960; Erbak *et al.*, 1983; Arias *et al.*, 1995). Přesto někteří autoři prokázali u vysazených ryb intenzivnější růst a vyšší přežití oproti původní populaci (Mason *et al.*, 1967). Velká pozornost je věnována i potenciálním vlivům vysazovaných ryb na genetické vlastnosti původních populací a možnostem šíření nemocí a parazitů (Krueger *et al.*, 1979; Hindar *et al.*, 1991; Heggberget *et al.*, 1993).

## 1.2 Růst a mortalita vysazených uměle odchovaných ryb v přírodních podmínkách

Experimenty zabývající se adaptabilitou uměle odchovaného ročka pstruha obecného v přírodních podmínkách volných vod a vlivem vysazených ryb na původní populace prováděl Baer (2004). V jarním období v letech 2001 – 2002 vysazoval označené ročky do předem

vytipovaných úseků malého toku. Tok byl rozdělen na 6 částí, z nichž do 2 částí nebyly odchované ryby vysazeny, ve 2 úsecích byla obsádka zdvojnásobena a ve 2 úsecích pak čtyřnásobena. Po 6 měsících byly ryby sloveny a přeměřeny. Bylo překvapivě zjištěno, že intenzita růstu vysazených a stejně starých volně žijících ryb byla velmi podobná a byla nezávislá na hustotě obsádky. Po 6 měsících bylo odloveno pouze 12 – 19 % vysazených ryb oproti 40 – 70 % stejně starých a 100 % starších volně žijících ryb. Volně žijící ryby nezměnily v důsledku přísazení odchovaných ryb svá stanoviště. Většina vysazených ryb opustila místo vysazení.

Weiss *et al.* Schmutz (1999) sledovali adaptabilitu uměle odchovaných násad pstruha obecného v podmínkách 2 rakouských toků s odlišným fyzikálně-chemickým charakterem (vápencový a křemenitý charakter). Do několika vybraných úseků těchto toků bylo vysazeno 2 – 3násobné množství odchovaných ryb oproti původně přítomným volně žijícím rybám, které byly větší než 18 cm. Jako kontrolní sloužily ryby v úsecích bez přísazení odchovaných ryb. Přežití vysazených ryb hodnocené po 3 a po 12 měsících od vysazení bylo v obou typech toků mírně nižší v porovnání s původní populací. Již po 3 měsících bylo přibližně 50 % vysazených ryb odloveno mimo úseky (200 m) původního vysazení, přičemž v toku s vápencovým podložím bylo toto procento závislé na hustotě nasazení, v toku s křemenitým podložím nikoli. V toku s vápencovým podložím byl u vysazených ryb po 3 měsících zaznamenán hmotnostní úbytek (7 – 11 %), v toku s křemenitým podložím naopak nárůst hmotnosti (5 – 25 %). Růst původních volně žijících ryb byl negativně ovlivněn pouze v podmínkách křemenitého toku. Ani v jednom z experimentálních toků nebyly zaznamenány významné změny ve velikosti a v biomase populací původních volně žijících pstruhů obecných v důsledku vysazení uměle odchovaných násad.

Obdobnou problematikou se zabýval také Naeslund (1990). Autor sledoval uplatnění na podzim vysazených roček (průměrná velikost 6 – 7 cm) pstruha obecného, z nichž část byla odchována intenzivně pomocí krmných směsí a část v extenzivních rybníčních podmínkách, v podmínkách severského toku. Podíl vysazených ryb oproti původní obsádce se pohyboval na úrovni 30 – 90 %. Přežití vysazených ryb se po 1 roce pohybovalo na úrovni 15 – 30 %, po 4 letech pak na úrovni 5 %. Bylo zjištěno, že v prvním roce po vysazení vykazovaly odchované ryby mnohem nižší intenzitu růstu než původní volně žijící ryby. Ryby odchované v rybníku vykazovaly vyšší přežití v porovnání s intenzivně odchovanými rybami. Ryby odchované extenzivním způsobem v rybnících doporučuje k vysazování také Huet (1986).

Vysokou mortalitu vysazených juvenilních pstruhů obecných prokázali Borgström *et al.* (2002). V průběhu 3 let od vysazení ryb klesl počet vysazených jedinců na 1 % původního

počtu. V dalších letech již nebyly zjištěni žádní původně vysazení jedinci. Autoři konstatují, že vysoká mortalita vysazených juvenilních ryb značně omezuje potenciální vliv těchto ryb (po dosažení pohlavní zralosti) na genetické vlastnosti původní populace.

Hesthagen *et al.* (1999) sledovali pomocí opakovaných odlovů růstové schopnosti a délku života uměle odchovaných po mnoho let opakovaně vysazovaných značených pstruhů obecných. Zjištěné výsledky porovnávali s původní populací. Výzkum probíhal na málo úživné nádrži s významným kolísáním vodní hladiny. Byl zjištěn významně pomalejší růst vysazovaných uměle odchovaných ryb. Průměrný dosahovaný věk u těchto ryb se pohyboval mezi 2 – 3 roky, pouze ojedinělé kusy se dožily více jak 5 let. Průměrný dosahovaný věk původních jedinců se pohyboval mezi 4 – 5 roky, přičemž část populace se dožívala až 8 let.

Sundell *et al.* (1998) porovnávali různé fyziologické ukazatele v krevní plazmě volně žijících a uměle odchovávaných anadromních pstruhů obecných (*Salmo trutta*). Zjistili, že podmínky umělého chovu negativně ovlivňují vývoj juvenilních stadií a domnívají se, že toto může ovlivňovat i úspěšnost migrace ryb do moře a jejich dlouhodobé přežití. Fjellheim *et al.* (1995) sledovali rozptyl, růst a mortalitu uměle odchovaného plůdku pstruha obecného a porovnávali tyto jedince s jedinci volně žijícími. Bylo zjištěno, že vysazený plůdek se několik týdnů po vysazení vyskytoval převážně v oblasti, kde byl vypuštěn. Týden po vysazení již nebyl zjištěn rozdíl ve složení potravy mezi sledovanými skupinami. Vysazený plůdek oproti volně žijícímu vykazoval nižší růst. Mortalita za období červenec – duben byla u vysazeného plůdku zjištěna na úrovni 99 %, u volně žijícího plůdku pak 79 %. L'Abée-Lund *et Saegrov* (1991) v jednom z norských jezer posuzovali efektivnost vysazování uměle odchovaných násad pstruha obecného. Zjistili, že vysazované ryby tvoří přibližně 30 % obsádky pstruha v tomto jezeře. Mezi oběma skupinami nebyl zjištěn rozdíl ve složení potravy a prostorovém rozšíření. Dále bylo zjištěno, že vysazované ryby dosahují lovné délky o rok dříve než ryby volně žijící. Hodnocením uplatnění uměle odkrmeného plůdku v podmínkách přírodního toku s původní obsádkou se též zabýval Naeslund (1990). Uvádí, že přežití plůdku v prvním roce po vysazení se pohybovalo v rozpětí 15 – 30 %.

Vlivem různých způsobů odchovu násad lipana podhorního na jeho růst, přežití a složení potravy po vysazení do volných vod se zabýval Carlstein (1997). Autor bohužel neporovnával sledované parametry vysazené populace s populací volně žijící.

Mnoho studií zabývajících se hodnocením adaptability uměle odchovaných násad lososovitých ryb ve volných vodách je zaměřeno na ryby vysazované v lovných velikostech. Ve většině případů autoři poukazují na nízké přežití a malou návratnost takto vysazených ryb (Nicholls, 1985; Johnson, 1983). Nízké přežití vysazených násad je dáváno do souvislosti



s původem odchovaných ryb (Lachance *et* Magnan, 1990), s nevhodnými způsoby chování při získávání potravy a malou konkurenceschopností (Ersbak *et* Haase, 1983; Bachman, 1984). Hesthagen *et al.* (1999) konstatují, že na úspěšnost vysazení ročka pstruha obecného mají významný vliv délka dopravy a velikost násadového materiálu.

### 3.4.3 Adaptace vysazených ryb na přirozenou potravu

Schopnost vysazených ryb přizpůsobit se přirozené potravě je jedním z hlavních limitujících faktorů jejich přežití ve volných vodách (Ersbak *et* Haase, 1983; Bachman, 1984; Johnsen *et* Ugedal, 1986; Kelly-Quinn *et* Bracken, 1988). Kelly-Quinn *et* Bracken (1989) zjišťovali spektrum přijímané potravy u vysazeného uměle odchovaného plůdku pstruha obecného a porovnávali jej se spektrem potravy stejné věkové kategorie volně žijících ryb. Autoři zjistili, že v průběhu jednoho týdne od vysazení se složky potravy vysazených ryb příliš nelišily od původních volně žijících ryb. V potravě vysazených ryb byl zaznamenán vyšší podíl hmyzích dospělců. Na základě tohoto zjištění autoři doporučují vysazovat plůdek pstruha obecného v období s dostatkem náletové potravy. L'Abée-Lund *et al.* (1992) sledovali v přehradní nádrži rozdíly v prostorovém rozšíření a výživě vysazených a volně žijících pstruhů obecných. Ve sledovaných parametrech nebyly zjištěny rozdíly mezi oběma skupinami.

V žaludcích vysazených uměle odchovaných ryb jsou často nalézány různé nepotravní složky (O'Grady, 1983; Johnsen *et* Ugedal, 1986). Strange *et* Kennedy (1979) konstatují, že vysazení uměle odchovaní pstruzi obecní jsou častěji uloveni na různé druhy vláčecích a přirozených nástrah, divocí spíše muškařením. Dále autoři poukazují na nízkou návratnost uměle odchovaných ryb vysazených v podzimním období.

### 3.4.4 Vliv podmínek umělého chovu na genetické vlastnosti chovaných i volně žijících populací

Jelikož podmínky umělých chovů jsou značně odlišné od přírodních podmínek (Kohane *et* Parsons, 1988; Price, 1999) může dojít v těchto podmínkách k významné redukci frekvence genotypů adaptovaných na přežití a reprodukci v přírodních podmínkách (Allendorf *et* Waples, 1995). Genetická odlišnost uměle chovaných jedinců od původní populace je způsobována především úmyslnou či neúmyslnou selekcí chovaných ryb, náhodným genetickým driftem nebo inbreedingem (Price, 1999). Takovéto změny se v chované populaci akumuluji s rostoucím počtem generací (Einum *et* Fleming, 2001). Ve většině prací, ve kterých byla prokázána genetická odlišnost od původních populací, byly sledovány populace

ryb chované v podmínkách umělých chovů již několik generací (Swain *et* Riddell, 1990; Berejikian *et al.*, 1996; Fleming *et* Einum, 1997; Deverill *et al.*, 1999). Verspoor (1988) však uvádí i příklad významných změn, ke kterým došlo již v průběhu první generace umělého odchovu lososa atlantského v důsledku genetického driftu. V některých případech může být zjištěná genetická odlišnost způsobena i tím, že uměle chované populace jsou jiného původu než s nimi porovnávané volně žijící populace (Fenderson *et al.*, 1968; Mesa, 1991).

Již během krátkého období mohou zkušenosti jedince získané v prostředí umělého chovu vyvolat změny fenotypového charakteru, přičemž genetická odlišnost od původní populace nemusí být zjištěna (Fleming *et al.*, 1997; Metcalfe *et al.*, 2003). Pokud jsou v podmínkách umělého chovu chovány generační ryby, může být v důsledku maternálního efektu ovlivněn i fenotyp potomstva (Mousseau *et* Fox, 1998). Ačkoli fenotypové změny vyvolané působením podmínek umělého chovu nemají velký evoluční význam, mohou významně ovlivnit adaptabilitu a životaschopnost uměle odchovaných jedinců vysazených do přírodních podmínek (Einum *et* Fleming, 2001).

Hansen *et al.* (2000) studovali vliv uměle odchovaných pstruhů obecných na původní volně žijící populaci pomocí mikrosatelitních a mitochondriálních DNA markerů. Zjistili, že vysazení pstruzi se v rámci anadromních populací podíleli na rozmnožování v menší míře (7 %), než v rámci nemigrujících populací (46 %). Largiader *et* Scholl (1995) zjistili, že vysazováním násad pstruha obecného pocházejících z atlantských populací byly nahrazeny původní populace této ryby vyskytující se v přítocích Jaderského moře.

Carline *et* Machung (2001) z důvodu objasnění pomalého růstu a vysoké mortality uměle chovaných populací pstruha obecného v letním období zjišťovali u chovaných i volně žijících populací ryb tzv. kritická teplotní maxima. Autoři zjistili, že chované populace měly významně sníženou adaptační schopnost k vysokým teplotám v porovnání s volně žijícími populacemi. Autoři předpokládají, že zjištěná rozdílnost je daná (v důsledku selekce na produkční parametry) geneticky. K obdobným výsledkům u sivena amerického dospěl i Vincent (1960).

### **3.4.5 Vliv podmínek umělého chovu na reprodukční parametry chovaných populací**

V důsledku podmínek umělého chovu může být významně ovlivněna přirozená selekce již na úrovni jiker. Např. v přírodním prostředí je optimální (preferovaná) velikost jiker do značné míry závislá na kvalitě výtěrového substrátu. V důsledku špatného přístupu kyslíku k jikrám uloženým v nekvalitním substrátu jsou přírodním výběrem preferovány jikry menších velikostí (van den Berghe *et* Gross, 1989). V podmínkách umělých chovů však

dochází v důsledku různých faktorů (např. selekce na rychlejší růst ryb, optimální koncentrace kyslíku ve vodě) k postupnému nárůstu velikosti jiker produkovaných chovanými generačními rybami (Fleming *et* Gross, 1990, 1992; Petersson *et* Järvi, 1993). Větší jikry jsou předpokladem produkce většího plůdku (Fowler, 1972; Beacham *et al.*, 1985) a jeho rychlejšího růstu (Pitman, 1979), což má za následek jeho lepší potravní konkurenceschopnost (Metcalf *et* Thorpe, 1992; Metcalf *et al.*, 1995). V umělých chovech v důsledku výše uvedených faktorů dochází k postupnému evolučnímu zvětšování velikostí chovaných ryb (Petersson *et* Järvi, 1993; Ruzzante, 1994).

Petersson *et al.*, (1996) sledovali v průběhu 27letého období velikostní a plodnostní parametry populací lososa atlantského a pstruha obecného (mořského), které byly chovány v podmínkách jedné líhně v centrálním Švédsku. Na základě porovnávání s původními populacemi autoři prokázali, že podmínky dlouhodobého umělého chovu způsobily významné fenotypové změny uměle chovaných ryb. Významně vzrostla velikost jiker i plůdku uměle chovaných ryb a následně i velikost adultních ryb. V případě pstruha obecného docházelo k postupnému zkracování délky pobytu vysazovaných ryb v mořském prostředí.

Srivastava *et* Brown (1991) zjistili, že jikry volně žijících lososů atlantských obsahují větší podíl bílkovin, tuků a energie v porovnání s jikrami uměle chovaných generačních ryb. Tyto parametry autoři dali do souvislosti se zjištěnou lepší oplozeností a líhivostí jiker volně žijících ryb a větší velikostí a lepším přežitím jejich plůdku. Hodnocením kvality a životaschopnosti jiker lososovitých ryb se dále zabývali Gray *et al.* (1987), Poole *et al.* (1994).

Estay *et al.* (2004) popisují vývoj reprodukčních parametrů u uměle chovaných generačních pstruhů obecných v průběhu tří po sobě následujících reprodukčních období. Většina ryb v podmínkách umělého chovu pohlavně dozrála ve třech letech. Autoři sledovali reprodukční parametry 3 – 5letých generačních ryb. Bylo prokázáno, že s velikostí ryb se zvyšovala absolutní plodnost a velikost jiker. Naopak relativní plodnost se s velikostí ryb snižovala. Autoři prokázali významnou závislost mezi oplozeností jiker a jejich přežitím do stadia očních bodů, tzn. že % jiker přeživších do stadia očních bodů je možno považovat za vyjádření kvality oplození.

Poole *et* Dillane (1998) prokázali vyšší koncentrace spermií u volně žijících samců pstruha obecného v porovnání se samci pocházejícími z umělých chovů. U všech sledovaných populací byla prokázána negativní korelace mezi koncentrací spermií a délkou respektive věkem ryb. Hodnocením spermatu lososovitých ryb z hlediska koncentrace spermií, motility,

složení seminální plazmy a oplozeníschopnosti se zabývali také Hwang *et al.*, 1969; Mounib, 1978; Piironen *et al.*, 1983; Aas *et al.*, 1991.

### 3.4.6 Vliv podmínek umělého chovu na chování vysazených ryb v přírodních podmínkách

Způsob chování uměle odchovaných ryb po jejich vypuštění do volných vod má velký význam pro jejich přežití, růst, reprodukci a tedy i pro výsledky zarybňovacích programů, které jsou často neuspokojivé (McNeil, 1991). Vliv podmínek umělého chovu na chování odchovaných ryb v přírodním prostředí se zaměřením na výživu, vztah k predátorům, agresivitu a chování v období reprodukce byl sledován mnoha autory (např. Hedenskog *et al.*, 2002; Petersson *et al.*, 2003; Huntingford, 2004).

Steingrund *et al.* (1997) uvádějí, že způsoby získávání potravy jsou u volně žijících i vysazených uměle odchovaných ryb podobné. Thoedesen *et al.* (1999) a Sanchez *et al.* (2001) u lososa atlantského a pstruha obecného prokázali, že jedinci pocházející z populací selektovaných na vysokou intenzitu růstu přijímali významně vyšší objem potravy než původní volně žijící jedinci.

Mork *et al.* (1999) uvádějí, že chování vysazených ryb v soubojích mezi jedinci se příliš neliší od chování volně žijících ryb. Domestikace však může agresivitu chovaných jedinců také významně ovlivnit, přičemž v důsledku selekce vyvolané různými režimy krmení může dojít ke zvýšení či naopak ke snížení agresivity chovaných skupin ryb (Ruzzante, 1994). Většina studií uvádí, že uměle chované ryby v přírodním prostředí jsou v porovnání s původními volně žijícími jedinci více agresivní (Sundström *et al.*, 2003). Ke stejnému závěru došli i Deverill *et al.* (1999), přičemž konstatovali i nižší intenzitu růstu vysazených uměle odchovaných pstruhů obecných v porovnání se souběžně vysazenými jedinci volně žijícími. Tuto skutečnost autoři přisuzují významným ztrátám energie, ke kterým dochází v důsledku zbytečného napadání jiných jedinců. Swain *et al.* (1990) zjistili, že čerstvě vykulený plůdek domestikovaných lososů *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum) vykazoval vyšší agresivitu v porovnání s plůdkem volně žijících ryb, který byl odchováván ve stejných podmínkách.

Salonen *et al.* (2004) sledovali a porovnávali agresivitu půlročního plůdku lipana podhorního pocházejícího od po dobu jedné generace uměle chovaných generačních ryb a plůdku volně žijících ryb. Všechny porovnávané skupiny plůdku byly od vykolení chovány ve stejných podmínkách. V případě uměle chovaných ryb byla prokázána nižší míra agresivního chování. Autoři tuto skutečnost odůvodňují rychlými genetickými změnami, ke kterým došlo

již v průběhu první generace odchovu ryb v podmínkách umělého chovu. Aby nedošlo ke změnám chování ryb, které ve svém důsledku mohou způsobit sníženou schopnost přežití v přírodních podmínkách, autoři doporučují pouze krátkodobé přechovávání ryb v umělých chovech. K zarybňování volných vod doporučují používat potomstvo volně žijících ryb.

Hawkins *et al.* (2004) zjišťovali, zda podmínky umělého chovu ovlivňují reakce uměle chovaných ryb vyvolané přítomností predátora. Autoři sledovali a porovnávali průběh a intenzitu pohybové frekvence žaberních víček 2 skupin plůdku lososa atlantského (potomstvo volně žijících ryb, z nichž 1 skupina byla odchovávána v podmínkách umělého chovu) v přítomnosti predátora (pstruh obecný). U obou skupin došlo v přítomnosti predátora k významnému zvýšení frekvence pohybu žaberních víček, přičemž dosahované frekvence byly u obou skupin podobné. Frekvenční maximum bylo však u skupiny chovaných ryb dosaženo později, než u volně žijících ryb. Na základě této skutečnosti autoři konstatovali, že ryby z umělého chovu reagovaly na hrozící nebezpečí podstatně později, než divoké ryby.

Řada studií se zabývá vzájemným porovnáváním chování odchovaných a divokých ryb v období reprodukce a potenciálním zapojením vysazených ryb do reprodukčního procesu. V důsledku selekce v chovech ryb často dochází i k posunům pohlavního dozrání i období výtěru ryb. V případě vysazení těchto ryb do vodních toků nemusí v důsledku časově odlišného dozrání vysazených a volně žijících generačních ryb dojít k jejich vzájemnému křížení (McLean *et al.*, 2003; Kallio-Nyberg *et al.*, 1997; Unwin *et al.*, 1997). Také sledování chování ryb v průběhu výtěrů je vhodná metoda využívaná k posouzení, zda se vysazené ryby úspěšně zapojily do přirozené reprodukce. Fleming *et al.* (1996, 1997) a Jonsson (1997) sledovali chování vysazených jedinců 5. generace uměle chovaných lososů atlantských v průběhu přirozeného výtěru. Vysazené ryby vykazovaly normální reprodukční chování (stavění hnízd, agresivita, atp.). Několik aspektů jejich chování však bylo kvantitativně odlišných od jedinců volně žijící populace. Uměle odchovaní samci byly méně agresivní, hůře navazovali kontakt se samicemi a absolvovali menší počet výtěrů. Uměle odchované samice vytvářely méně hnízd než volně žijící a nedostatečně tato hnízda zakrývaly.

### 3.4.7 Značení ryb

Aby bylo možné porovnávat mezi sebou různé skupiny ryb jednoho druhu žijící ve stejné lokalitě, je nutno je odlišit pomocí vhodných značících systémů. Jako velice vhodný pro skupinové značení se jeví značící systém VIE americké firmy Northwest Marine Technology, Inc. (NMT). Jedná se o systém umožňující značení ryb pomocí barevných

značek tzv. elastomerů. Značky nijak nepoškozují ani neomezují označené ryby a je možno jimi označit jedince již od velikosti 5 cm. Určitým problémem je ztrátovost značek. Zkušenosti se značením ryb značkami VIE uvádí McMahon *et al.* (1996). Autoři hodnotili retenci značek VIE u 4 druhů lososovitých ryb. Ztráty značek v průběhu sledovaného období (30 – 430 dnů) se pohybovaly v rozmezí 2 – 50 %, přičemž nejvýznamnější byly v průběhu prvních 100 dnů experimentu. Bylo zjištěno, že u většiny druhů byla statisticky průkazně vyšší retence značek u ryb větších než 200 mm (TL). U skupin menších ryb tomu bylo naopak. K podobným závěrům došli i Bryan *et Ney* (1994), Niva (1995), Blankenship *et Tipping* (1993), Mourning *et al.* (1994) a další. Zkušenosti se značením ryb individuálními alfanumerickými značkami VIA uvádí Rikardsen *et al.* (2002). Autoři hodnotili retenci značek VIA u sivenů alpských o velikostech 170 – 209 mm. Ztráty značek v průběhu sledovaného období (160 dnů) byly 22 %, přičemž většina značek byla ztracena v průběhu prvních 10 dnů po označení. Růst značených ryb a jejich mortalita se nelišily od kontrolní neznačené skupiny. Nejdůležitějšími faktory ovlivňujícími retenci značek jsou kvalita aplikace značek spočívající v jejich vhodném umístění a stupni poškození tkáně v místě aplikace (Shepard *et al.*, 1996) a zkušenost značící osoby (Niva, 1995).

Při realizaci studií zabývajících se tzv. „gene flow“, jejichž cílem je kvantifikovat úspěšnost reprodukce jedinců nebo skupin (např. úspěšnost reprodukce vysazených uměle odchovaných ryb v rámci volně žijící populace) jsou k charakterizaci jedinců či skupin využívány genetické markery, které jsou alternativou běžně užívaných mechanických značek (Seeb *et al.*, 1986; Leider *et al.*, 1990; Moran *et al.*, 1994; Skaala *et al.*, 1996).

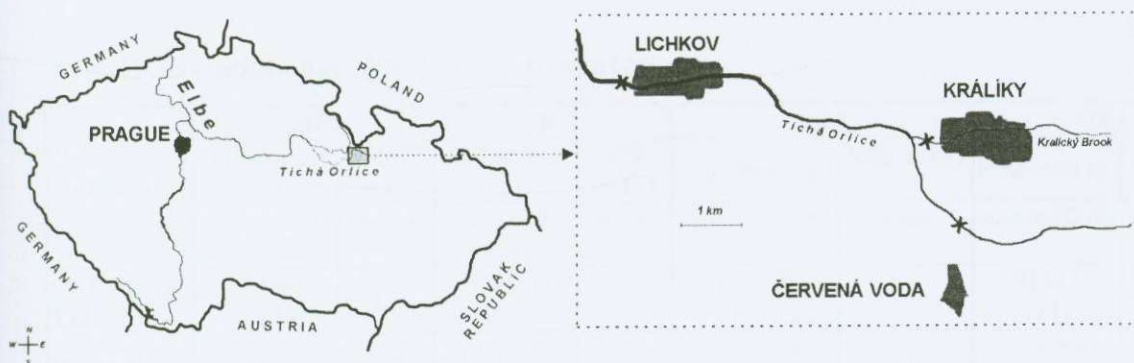
# 4. MATERIÁL A METODIKA

## 4.1 HODNOCENÍ POTENCIÁLNÍHO Vlivu KONTAMINACE VODNÍHO PROSTŘEDÍ NA PŘIROZENOU REPRODUKCI LOSOSOVITÝCH RYB

### 4.1.1 Tichá Orlice

V rámci zjišťování možných příčin nepříznivých výsledků umělé reprodukce generačních lososovitých ryb odlovovaných v horním toku Tiché Orlice a jejím přítoku Kralickém potoce byl hodnocen vliv kontaminace vodního prostředí na endokrinní systém ryb. Indikátorový druh pstruh obecný byl odlovován na lokalitách Červená Voda, Králíky a Lichkov v letech 2000-2003 (obr.1). Z každé lokality bylo každoročně odlovováno a analyzováno 14 ks ryb obou pohlaví. Z kontaminujících látek byly sledovány koncentrace toxických kovů (Hg, As, Cd, Pb, Cu, Zn, Cr a Ni) a perzistentních organochlorovaných polutantů (PCB - indikátorové kongenery 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180, HCH, HCB, DDT a jeho metabolity, OCS) ve svalovině indikátorových ryb a v sedimentu. V sedimentu byly zjišťovány koncentrace PAH a pomocí stanovení biochemického markeru 1-hydroxypyrenu (1-OHPY) ve žluči indikátorových ryb byla sledována biologická odezva přítomnosti PAH ve vodním prostředí. Vliv kontaminace na endokrinní systém ryb byl posuzován pomocí stanovení koncentrací vitellogeninu v krevní plazmě samců indikátorových ryb.

Obr. 1: Mapa sledovaných lokalit Tiché Orlice



Ryby byly odlovovány elektrickým agregátem, změřeny a zváženy. Základní charakteristika odlovených ryb je uvedena v tab. 1. Dále byla odebrána krev (z *vena caudalis*), vzorky tkání pro stanovení perzistentních organochlorových polutantů a žluč pro stanovení 1-hydroxypyrenu. Ihned po odběru krve bylo provedeno její odstředění a následné zmrazení v tekutém dusíku. Krevní plazma a žluč byly až do provedení analýz skladovány v kryotubách při  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Stanovení obsahu vitellogeninu v krevní plazmě bylo provedeno pomocí ELISA kitu firmy Biosense Laboratories (Norsko). Pro pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario*) byl použit Rainbow trout Vtg Elisa kit.

Stanovení obsahu celkové rtuti v tkáních ryb a v sedimentu bylo provedeno metodou AAS na jednoúčelovém analyzátoru rtuti AMA-254 (ALTEC s.r.o.). Stanovení Pb, Cd, Cr, Cu a Ni bylo provedeno metodou ETAAS, stanovení Zn metodou FAAS a stanovení As metodou AAS-hydridy. Přesnost stanovení byla validována pomocí následujících referenčních materiálů: CRM No. 278, MA-B-3/(TM), TORT-2. Analýzy na obsah toxických kovů byly prováděny pouze v letech 2000 – 2001. Obsah perzistentních organochlorovaných polutantů v analyzovaných matricích byl zjišťován pomocí plynové chromatografie. Stanovení 1-hydroxypyrenu bylo po předchozí úpravě vzorku žluči provedeno pomocí reverzní vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC/FLD). 1-hydroxypyren byl identifikován a kvantifikován pomocí metody vnějšího standardu (Hosnedl *et al.*, 2003).

Pohlaví ryb bylo identifikováno makroskopicky a potvrzováno histologickou analýzou. Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí ANOVA Mann-Whitney testu.

**Tab. 1: Základní charakteristika odlovených ryb**

Lokalita	2000		2001		2002		2003	
	Hmotnost (g)	Věk (roky)	Hmotnost (g)	Věk (roky)	Hmotnost (g)	Věk (roky)	Hmotnost (g)	Věk (roky)
	mean±SD (n)	mean	mean±SD (n)	mean	mean±SD (n)	mean	mean±SD (n)	mean
ČERVENÁ VODA	81 ± 25 (14)	2,5	107 ± 34 (14)	2,4	126±39 (14)	3,0	91±12 (14)	2,1
KRÁLÍKY	142 ± 26 (14)	2,7	137 ± 26 (14)	3,2	208±128 (14)	3,0	118±66 (14)	2,4
LICHKOV	127 ± 35 (14)	2,8	139 ± 19 (14)	3,0	149±40 (14)	2,6	119±43 (14)	2,5



## 2.2 Blanice

Při sledování prováděných v povodí řeky Blanice byla posuzována potenciální možnost kontaminace chráněné rybí oblasti nacházející se na hlavním toku řeky Blanice neostrogenními látkami pocházejícími z prachatické aglomerace. Sledování proběhla na 3 lokalitách (obr. 2) v červenci 2003. Jako nejvýše položená (kontrolní) byla vybrána lokalita isinec, přičemž ryby z této lokality byly odloveny přibližně 1 km pod hrází ÚN Husinec. Jako lokalita podezřelá z kontaminace xenoestrogenními látkami byl sledován dolní úsek Živného potoka nacházející se mezi vtokem potoka do Blanice (v dolní části chráněné rybí oblasti) a ČOV Prachatice (předpokládaný zdroj kontaminace). Lokalita Strunkovice se nachází přibližně 5 km pod soutokem Blanice a Živného potoka. Indikátorovou rybou byl truh obecný.

obr. 2: Mapa sledovaných lokalit řeky Blanice



Ryby byly odloveny elektrickým agregátem, změřeny a zváženy. Základní charakteristika odlovených ryb je uvedena v tab 2. Dále byla odebrána krev (z *vena caudalis*), vzorky tkání pro stanovení perzistentních organochlorových polutantů a žluč (u pěti ryb z každé lokality řeky Blanice) pro stanovení 1-hydroxypyrenu. Při odběru krve bylo postupováno dle Svobodové *et al.* (1986). Ihned po odběru krve bylo provedeno její



dstředění a následné zmrazení krevní plazmy v tekutém dusíku. Krevní plazma a žluč byly kladovány v kryotubách při  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Stanovení obsahu vitellogeninu v krevní plazmě pstruha becného bylo provedeno pomocí Rainbow trout Vtg Elisa kitu (Biosense Laboratories, Norway). Ve směsných vzorcích tkání ryb byl sledován obsah 7 indikátorových kongenerů 'CB, DDT a jeho metabolity, izomery HCH, HCB a OCS. Všechny uvedené perzistentní organochlorové polutanty (POPs) byly analyzovány také v sedimentech dna z příslušných odběrových lokalit. Obsah těchto látek v analyzovaných matricích byl zjišťován pomocí plynové chromatografie. Vlastní stanovení 1-hydroxypyrenu bylo po předchozí úpravě vzorků žluči provedeno pomocí reverzní vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC/FLD). 1-hydroxypyren byl identifikován a kvantifikován pomocí metody vnějšího standardu (Hosnedl *et al.*, 2003). Pohlaví ryb bylo identifikováno makroskopicky. Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno analýzou rozptylu pomocí programu Statgraphics.

**Tab. 2: Základní charakteristika samic pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.) odlovených 24.7.2003 na lokalitách řeky Blanice**

Lokalita	počet ryb	věk	hmotnost	délka těla
	(ks)	(roky)	(g)	(mm)
Strunkovice nad Blanici	5	$3,2 \pm 0,84$	$207 \pm 73,6$	$234 \pm 34,5$
Živný potok	8	$2,5 \pm 0,53$	$139 \pm 28,6$	$208 \pm 15,6$
Husinec	6	$2,8 \pm 0,41$	$172 \pm 48,9$	$226 \pm 22,2$

#### 4.2. ODCHOV GENERAČNÍCH PSTRUHŮ OBECNÝCH A LIPANŮ PODHORNÍCH V KONTROLOVANÝCH PODMÍNKÁCH

Odchov generačních hejn pstruhů obecných a lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách byl prováděn na líhni MO ČRS Husinec ( $49^{\circ}03'$  s.š.,  $14^{\circ}01'$  v.d., 500 m.n.m.) nacházející se na řece Blanici pod ÚN Husinec (37 ha;  $2,5\text{ mil m}^3$ ). Líheň a okolní odchovné objekty (žlabové systémy, betonové bazény, zemní rybníčky) jsou napájeny vodou z řeky Blanice. Průměrná roční teplota vody je  $8,9 \pm 6,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ , průměrný průtok v řece Blanici  $1,7 \pm 1,7\text{ m}^3$ . Jako zdroj volně žijících generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních je využíván přibližně šestikilometrový úsek řeky Blanice nacházející se pod hrází ÚN Husinec,

erý má statut chráněné rybí oblasti (CHRO). Každoročně je z tohoto úseku pomocí ektrických agregátů odlovováno a uměle vytíráno 200 – 600 ks pstruhů obecných (z toho 3 samic) a 100 – 250 ks lipanů podhorních (z toho 2/3 samic). Po provedení umělých výtěrů ou ryby vypouštěny zpět do CHRO. Část generačních ryb (přibližně 1/3) je při odlovech nechána v toku, čímž je v důsledku přirozené reprodukce zajištěna obnova populací pstruha obecného a lipana podhorního.

Odchov generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách byl zahájen v roce 2000. Část potomstva pocházejících z umělých výtěrů (1999 – pstruh obecný; 2000 – lipan podhorní) generačních ryb volně žijících v řece Blanici byla odchována v podmínkách umělého chovu až do stadia generačních ryb (2002). Inkubace jiker pstruha obecného (listopad 1999 – duben 2000) probíhala na Rückel-Vackových parátech a v inkubačních vložkách umístěných ve žlabech. Na jeden aparát bylo vysazováno přibližně 10 000 ks jiker. Po vykulení ryb a částečném vstřebání žloutkového vaku byly ryby vysazovány k dalšímu odchovu na mělké (Williamsovy) žlaby. Obsádka jednotlivých žlabů se pohybovala v rozsahu 15 – 20 000 ks. Jikry lipana podhorního byly inkubovány (duben – červen 2000) v Kannengieterových láhvích různých velikostí, přičemž objem inkubovaných jiker tvořil obvykle polovinu kapacity inkubačního přístroje. Po vykulení byly ryby vysazeny na mělké žlaby v počtu 20 – 30 000 ks/žlab.

Rozkrm a odkrm plůdku pstruha obecného i lipana podhorního probíhal (na rozdíl od minulosti, kdy byl používán pouze živý plankton) téměř výhradně pomocí kompletních krmných směsí. Aplikace krmiva v průběhu prvních 10 dnů používání krmné směsi probíhala ručně, krmivo bylo rovnoměrně rozmístováno do všech částí nádrže a frekvence krmení klesala postupně z 12 na 8 dávek denně. Po uplynutí této doby byly instalovány krmné automaty na hodinový strojek - vždy dva na jeden žlab. Pro rozkrm a počáteční odkrm byla použita krmná směs pro plůdek pstruha duhového firmy AQUA FOOD a/s – typ B00 Plůdek lososa 55/15 o velikosti granulí 0,35 – 0,6 mm. Denní krmná dávka se zpočátku pohybovala kolem 3 % aktuální hmotnosti obsádky a postupně v průběhu prvního měsíce odkrmu klesala přibližně na 1,5 %.

Po prvních 6 týdnech odchovu bylo 15 000 ks odkrmeného plůdku pstruha obecného vysazeno do průtočné betonové sádky s objemem vody 8 m<sup>3</sup>. V této nádrži pokračoval umělý odchov až do stadia ročka. 10 000 kusů plůdku lipana podhorního bylo po 6 týdnech odchovu na žlabech vysazeno do průtočného zemního rybníčku (100 m<sup>2</sup>). V této nádrži pokračoval umělý odchov až do stadia ročka. Ryby (pstruh obecný i lipan podhorní) chované v kontrolovaných podmínkách byly krmeny kompletními krmnými směsmi pro pstruha

duhového s co nejnižším obsahem tuku (DanaFeed, Biomar). Využívány byly krmné automaty na hodinový strojek. Ryby byly pravidelně vyšetřovány na pracovišti VÚRH JU Vodňany a v případě zjištění zdravotních problémů byla doporučována terapie. V dalších letech byly v provozních podmínkách testovány různé technologie odchovu roček pstruha obecného a lipana podhorního. K odchovu v kontrolovaných podmínkách byly používány různé typy nádrží (zemní rybníčky, betonové sádky, plastové nádrže).

Odchov pstruhů obecných i lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách probíhal od listopadu 2000 (od stadia ročka) ve dvou silně průtočných betonových sádkách obdélníkového tvaru s objemem vody 20 m<sup>3</sup>. Do první nádrže bylo vysazeno 5 000 kusů uměle odchovaného ročka pstruha obecného, do druhé nádrže 5 000 kusů uměle odchovaného ročka lipana podhorního. Po roce odchovu (dvouleté ryby) byl lipan podhorní přemístěn v počtu 2 500 ks do silně průtočného zemního rybníčku (200 m<sup>2</sup>, 300 m<sup>3</sup>) a pstruh obecný rozdělen po přibližně 2 000 ks do dvou výše uvedených betonových nádrží. Odchov v těchto podmínkách probíhal až do stadia generačních ryb. Ryby byly krmeny pomocí kompletních krmných směsí pro pstruha duhového s co nejnižším obsahem tuku (Trocco, Biomar). Využívány byly krmné automaty na hodinový strojek i ruční krmení. V případě potřeby byly ryby vyšetřovány na pracovišti VÚRH JU Vodňany, byly doporučovány a prováděny terapie.

Ve finální fázi odchovu generačních hejn pstruha obecného a lipana podhorního (srpen 2002) byly experimentální nádrže zdevastovány dvěma povodňovými vlnami, přičemž došlo k úniku všech remontních lipanů podhorních a přibližně poloviny pstruhů obecných. Jednu z nádrží se pstruhem obecným se bezprostředně před příchodem povodňové vlny podařilo slovit a dočasně přemístit do výše položené nádrže. Tato skupina byla používána v následných experimentech. Intenzivní odchov nové populace generačních lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách nebyl z důvodů nedostatku plůdku a dlouhodobých oprav experimentálních nádrží v následujících letech realizován.

Po povodních a následné opravě zařízení areálu líhně v roce 2002 bylo zbylých přibližně 1 500 kusů tříletých pstruhů obecných umístěno zpět do původních nádrží. Na počátku listopadu 2002 byl proveden první umělý výtěr přibližně 250 kusů uměle odchovaných samic pstruha obecného. Jelikož bylo plánováno, že z důvodu co nejvyššího zachování původních vlastností volně žijících ryb u potomstva bude k oplozování jiker uměle chovaných samic používáno mlíčí volně žijících samců, byla v průběhu tohoto umělého výtěru provedena selekce a z chovu byla vyřazena většina samců. Přibližně 20 samců bylo ponecháno v generačním hejnu pro účely stimulace pohlavního dozrávání samic. V listopadu 2003 byl proveden umělý výtěr cca 300 ks uměle odchovaných čtyřletých samic, v roce 2004

pak 160 ks pětiletých samic. Oplozování jiker uměle odchovaných samic bylo obvykle prováděno spermatem volně žijících samců z chráněné rybí oblasti na řece Blanici. Ryby byly krmeny ručně a výhradně granulovanými krmnými směsmi příslušných velikostí s obsahem tuku do 15 %. Aby nedocházelo ke ztučňování ryb a k poškozování jater, krmné dávky se pohybovaly na spodní hranici dávek doporučených výrobcí používaných krmných směsí. Při teplotě vody nad 16 °C byly krmné dávky sníženy přibližně na polovinu, při teplotách nad 18 °C a při silném zákalu vody ryby nebyly krmeny. V případě déletrvajících zvýšených teplot byly jednou za dva dny podávány minimální (záchovné) dávky krmiv, přičemž krmení bylo prováděno v dopoledních hodinách. Z důvodu zachování genetické variability chované populace nebyly, s výjimkou vyřazení samců z chovu, prováděny žádné úmyslné selekce.

### 4.3 ZVYŠOVÁNÍ EFEKTIVITY UMĚLÉ REPRODUKCE LIPANA PODHORNÍHO

#### 4.3.1 Synchronizace ovulace u samic lipana podhorního

Za účelem zvýšení procenta ovulujících jikernaček, soustředění období výtěru do co nejkratšího časového intervalu a tím i zajištění provozní jednoduchosti a spolehlivosti celého reprodukčního procesu byl testován efekt injekční aplikace hormonálních preparátů. Testována byla aplikace acetonem odvodněné kapří hypofýzy a hormonálního přípravku Kobarelinu (syntetický analog spouštěcího hormonu gonadotropinu (D-Ala<sup>6</sup>) Gn-RH ProNHet).

Generační ryby byly od stadia plůdku odchovány extenzivním způsobem v rybníčních podmínkách (koupaliště, požární nádrže). Odchované generační ryby byly soustřeďovány v průtočném rybníku (rozloha 1 ha, průměrná hloubka 2 m) v blízkosti líhně MO ČRS Husinec. Počátkem dubna 2000, kdy po vzestupu teploty vody na 9 - 10 °C začaly ryby najíždět do přítoku, byl rybník sloven. Bylo sloveno celkem 337 lipanů podhorních, z toho bylo 200 samic a 137 samců. Samci byli umístěni do zemního rybníčku v areálu MO ČRS Husinec. 20 ks samic ještě v tomto roce nebylo schopno výtěru, 35 ks bylo vytřeno ihned po výlovu. Zbylé samice byly rozděleny do 3 skupin a umístěny do 3 laminátových žlabů. U 10 ks ryb z každé skupiny byly zjišťovány velikostní parametry (tab. 3).

Skupina I (42 ks) byla podle metodiky (Pokorný *et* Kouřil, 1999) jednorázově injikována kapří hypofýzou v dávce 5 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky, skupina II (38 ks) byla opět podle metodiky (Pokorný *et* Kouřil, 1999) do hřbetní svaloviny injikována hormonálním přípravkem Kobarelinem obsahujícím syntetický analog spouštěcího hormonu gonadotropinu

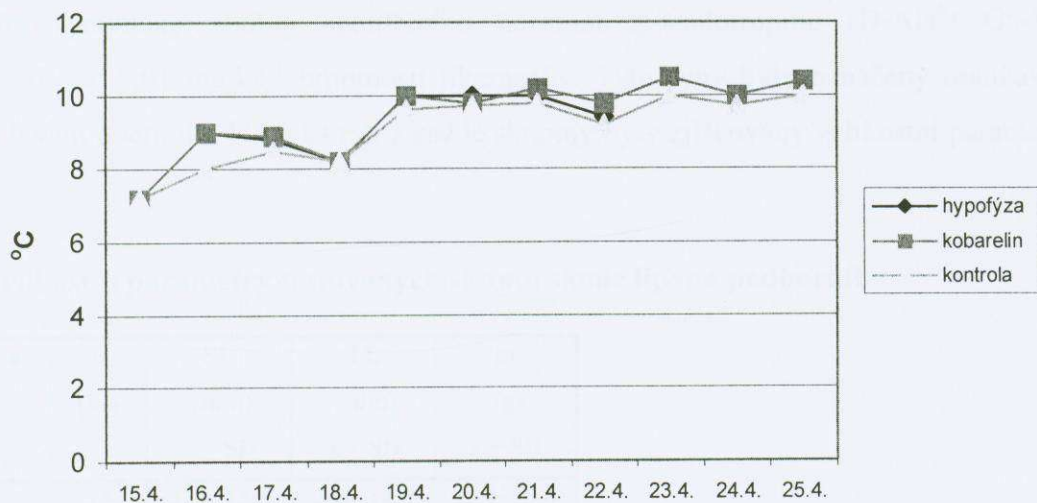
(D-Ala<sup>6</sup>) Gn-RH ProNH<sub>2</sub>Et v dávce 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky, skupina III (65 ks) nebyla injikována a sloužila jako kontrola. Ryby byly injikovány po anestezii v roztoku přípravku 2-phenoxyethanol v koncentraci 0,25 ml.l<sup>-1</sup> vody ve fázi anestézie IIb (Hamáčková *et al.*, 2004; Hamáčková *et al.*, 2002), která nastávala obvykle po 3 – 4 minutách expozice. Po každé manipulaci byly ryby ošetřeny krátkodobou koupelí v manganistanu draselném (0,1 g.l<sup>-1</sup> po dobu 5 minut) podle Čítka *et al.* (1997). Na žlabech byla každodenně měřena teplota vody a koncentrace kyslíku. Teploty vody v jednotlivých žlabech se pohybovaly převážně v rozmezí 8 – 10 °C (obr. 3).

**Tab. 3: Velikostní parametry testovaných skupin samic lipana podhorního**

skupina	n (ks)	SL (mm) x ± SD	TL (mm) x ± SD	m (g) x ± SD
I	42	215±12,6	250±15,5	134±25,3
II	38	217±7,9	252±10,0	133±15,9
III	65	209±9,2	242±10,3	119±15,5

- I. skupina – injekce kapří hypofýzou  
 II. skupina – injekce Kobarelinem  
 III. skupina – kontrola bez injekce

**Obr. 3: Průběh teploty v jednotlivých žlabech v průběhu experimentu**



Všechny ryby byly v intervalech 2 – 3 dnů kontrolovány a zralé vytírány, přičemž byl zaznamenáván jejich počet. Experiment probíhal 10 dnů (15.4. – 25.4. 2000). Orientačně byly u 10 náhodně vybraných kusů experimentálního hejna zjišťovány vybrané reprodukční parametry.

#### 4.3.2 Hodnocení vlivu vybraných preparátů indukujících ovulaci na průběh umělého výtěru generačních lipanů podhorních a na jejich mortalitu v povýtěrovém období

Po ukončení experimentů v roce 2000 byly vytřené ryby umístěny do rybníčního prostředí. V průběhu několika měsíců však došlo k postupnému úhynu většiny obsádky. Tento fakt vedl k opakování experimentů v roce 2001 se zaměřením na sledování mortality generačních ryb v povýtěrovém období.

Dne 25.4. 2001 bylo sloveno z 1 ha rybníka celkem 141 kusů lipana podhorního, z toho bylo 87 samic a 54 samců. Teplota vody v době výlovu byla 7 °C. Samice byly rozříděny do 5 skupin. Skupina ihned vytřených samic byla společně se samci umístěna do zemního rybníčku, ostatní samice pak do 4 žlabů. Ihned po výlovu bylo uměle vytřeno 6 ks samic, které byly pro účely sledování povýtěrové mortality označeny pomocí injekčně implantovaných značek tzv. elastomerů (Visible Implant fluorescent Elastomer (VIE) tags) jako kontrolní skupina (zelená značka na levém operkulu). Stejným způsobem byla označena i skupina 17 ks nevytřených samic umístěných do žlabu č. 1 jako kontrolní skupina bez injekční aplikace. Skupina ryb umístěných do žlabu č. 2 (20 ks) byla injikována pouze fyziologickým roztokem (0,2 ml.kus<sup>-1</sup>) a tyto ryby byly označeny pomocí elastomerů zelené barvy na pravém operkulu. Tato skupina měla prověřit, zda je povýtěrová mortalita ovlivněna vlastní injekční aplikací. Třetí skupina (22 ks) byla jednorázově injikována kapří hypofýzou v dávce 5 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky a ryby byly označeny oranžovou barvou na pravém operkulu. Čtvrtá skupina (22 ks) byla injikována hormonálním přípravkem Kobarelin obsahujícím syntetický analog spouštěcího hormonu gonadotropinu (D-Ala<sup>6</sup>) Gn-RH ProNHet v dávce 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky. Tyto ryby byly označeny oranžovou barvou na levém operkulu. U 10 ks ryb z každé skupiny byly zjišťovány velikostní parametry (tab. 4).

Tab. 4: Velikostní parametry testovaných skupin samic lipana podhorního

skupina	n (ks)	SL (mm) x ± SD	TL (mm) x ± SD	m (g) x ± SD
I	23	223+15,8	264+14,9	144+25,6
II	20	221+7,5	253+10,6	132+11,2
III	22	219+12,7	253+12,6	132+21,5
IV	22	235+23,4	273+27,2	169+59,6

I. skupina – kontrola bez injikace



- II. skupina – injekce fyziologickým roztokem
- III. skupina - injekce kapří hypofýzou
- IV. skupina – injekce Kobarelinem

Teplota vody ve žlabech (obr. 4) se v průběhu experimentu rovnoměrně zvyšovala, přičemž v jeho 1. polovině byla poměrně nízká a z hlediska urychlení průběhu ovulace nebyla optimální.



Ryby byly injikovány a značeny po anestezii v roztoku přípravku 2-phenoxyethanol v koncentraci  $0,25 \text{ ml.l}^{-1}$  vody. Po každé manipulaci byly ryby ošetřeny krátkodobou koupelí v roztoku manganistanu draselného. Na žlabech byla každodenně měřena teplota a kyslík. Všechny ryby (včetně kontrolních) byly v intervalech 2 dnů kontrolovány a zralé vytírány, přičemž byl zaznamenáván jejich počet. Při výtěru byly u 15 ks samic náhodně vybraných z experimentálních žlabů zjišťovány plodnostní parametry. První část experimentu probíhala 10 dnů (25.4. – 5.5. 2001). Vytřené ryby byly umísťovány do zemního rybníčka a 17. 5. vysazeny zpět do rybníka, ze kterého byly v předvýtěrovém období odloveny. Společně s generačním lipanem bylo vysazeno do stejné nádrže 150 ks velikostně odpovídající násady síha severního marény (*Coregonus lavaretus maraena*) jako kontrolní skupina ryb pro alespoň částečné odlišení ztrát způsobených predátory (především vydra říční). Výlov a vlastní vyhodnocení povýtěrové mortality proběhlo 13.10.2001.

#### 4.3.3 Hodnocení vlivu vybraných léčiv a způsobu jejich aplikace na povýtěrovou mortalitu generačních lipanů podhorních

Z důvodu opakovaně zjišťovaných (prakticky totálních) ztrát uměle vytřených ryb, které byly po umělém výtěru vysazeny zpět do odchovného rybníka, byla klasicky používaná technologie umělého výtěru lipana podhorního doplněna o opatření, která měla povýtěrovou mortalitu významně snížit a umožnit tak opakované využití generačních lipanů podhorních

k umělé reprodukci. Prvním z těchto opatření bylo použití anestezie u samic při umělém výtěru. Používalo bylo anestetikum 2-phenoxyethanol v koncentraci  $0,25 \text{ ml.l}^{-1}$ . Jednotlivé ryby byly uspávány bezprostředně před umělým výtěrem. S rybami bylo manipulováno po dosažení fáze anestezie IIb (Hamáčková *et al.*, 2004; Hamáčková *et al.*, 2002). Dále nebyla používána hormonální stimulace. Po provedení umělého výtěru a desinfekční koupele v manganistanu draselném ( $0,1 \text{ g.l}^{-1}$  po dobu 5 minut) podle Čítka *et al.* (1997) nebyly uměle vytřené ryby vysazovány do rybníčních podmínek, ale do vodního toku (chráněná rybí oblast – Blanice).

Dále byl testován vliv injekční aplikace antibiotika v kombinaci s preparátem zastavujícím krvácení samicím při jejich umělém výtěru na povýtěrovou mortalitu takto ošetřených ryb a na jejich reprodukční parametry zjišťované v následující vegetační sezóně. Jako antibiotikum byl použit přípravek Penstrepten Biotika inj. ad us. vet. obsahující kombinaci penicilinu a streptomycinu (Procaini benzylpenicillinum monohydricum 20 000 000 U.I. a Dihydrostreptomycini sulfas 20 000 000 U.I. ve 100 ml), které působí baktericidně na grampozitivní a gramnegativní bakterie). Pro Penstrepten byla použita dávka  $0,1 \text{ ml.kg}^{-1}$  živé hmotnosti. Jako prostředek zastavující krvácení byla použita kyselina paraaminomethylbenzoová (PAMBA) v humánní specialitě PAMBA inj., která patří do skupiny syntetických antifibrinolytik. Dávky použitých léčiv byly vykalkulovány na základě dávek použitých u generačních lipanů Kupkou (1967). Dále bylo pro výpočet dávky využito obecně stanovené dávky pro indikační skupinu (skot, kůň, prase, ovce, koza, pes, kočka) speciality Penstrepten Biotika inj. ad us. vet.:  $1 \text{ ml}/10 \text{ kg ž. hm.}$  Pro šetrnou aplikaci a přesné dávkování zvolených léčiv byl připraven zásobní roztok :  $2 \text{ ml Penstreptenu} + 7,5 \text{ ml PAMBA} + 7,5 \text{ ml fyziol. roztok}$ . Jednotlivým rybám bylo do hřbetní svaloviny injekčně aplikováno  $0,2 \text{ ml}$  zásobního roztoku. Experimentální ryby byly označeny vizuálními alfanumerickými značkami (VIA) firmy Northwest Marine Technology, Ltd. (USA), které umožňovaly jak skupinové rozlišení (různé barvy značek), tak rozlišení individuální (číselný kód). Tyto značky byly implantovány pod průhlednou epidermis v okolí očí ryb. Sledování dosud probíhá. Předběžné výsledky dosažené v letech 2004 – 2005 jsou uvedeny v této práci.

Ryby používané k experimentům byly odlovovány v podzimním období z chráněné rybí oblasti řeky Blanice a přes zimu přechovávány v průtočném rybníku (rozloha  $1 \text{ ha}$ , průměrná hloubka  $2 \text{ m}$ ). V předvýtěrovém období byl rybník sloven a generační ryby byly přemístěny do manipulačního rybníčku v areálu líhně MO ČRS Husinec. V tomto rybníčku byly v důsledku snížení průtoku vody a snížení hladiny zvyšována teplota a ryby byly pravidelně kontrolovány. Při zjištění připravenosti části obsádky na výtěr byl rybník sloven,

byly vybrány zralé ryby, tyto ryby byly individuálně anestetizovány, byly zjišťovány jejich velikostní parametry (SL, TL, hmotnost), byl proveden jejich umělý výtěr, zjišťovány jejich reprodukční parametry (hmotnost vytřených jiker, velikost a hmotnost jiker, absolutní a relativní plodnost), části ryb byly aplikovány testované preventivní léčebné přípravky, následně byla provedena desinfekční koupel a ryby byly vysazeny do toku Blanice.

V roce 2004 byly provedeny 2 umělé výtěry (24.4. a 29.4.), při kterých bylo experimentálně vytřeno celkem 40 ks samic lipana podhorního. 20 kusům byla intramuskulárně (do hřbetní svaloviny) aplikována směs Penstrepten a PAMBA, 20 ks bylo ponecháno bez aplikace. Ryby, jimž bylo aplikováno léčivo, byly označeny oranžovými značkami, skupina ryb bez aplikace byla označena červenými značkami. Po provedení umělého výtěru byly ryby vysazeny do horní části chráněné rybí oblasti na řece Blanici. Vyhodnocení experimentu bylo provedeno 25.10. 2004, kdy byla chráněná rybí oblast za sníženého stavu vody (manipulace na VD Husinec) důkladně prolovena a odlovené značené ryby jednotlivých skupin spočítány a přeměřeny. Porovnání reprodukčních ukazatelů obou skupin bylo porovnáno při umělých výtěrech v následující sezóně (18.4. a 27. 4. 2005).

V roce 2005 byl experiment opakován. Jelikož bylo k dispozici více jedinců byl počet testovaných skupin rozšířen a odlišen pomocí VIA značek. V rámci kontrolní skupiny (44 samic) byly vytvořeny 2 podskupiny. 1. podskupina zahrnovala 20 samic. Tyto ryby nebyly uměle vytírány ani jim nebyly aplikovány léčebné přípravky. Byly po označení vypuštěny do toku, aby jejich výtěr mohl proběhnout přirozeným způsobem. 2. kontrolní podskupina zahrnovala 24 samic. Tyto ryby byly uměle vytřeny, léčebné přípravky jim nebyly podávány. V rámci skupiny s aplikací léčebných přípravků (43 samic) byly také vytvořeny 2 podskupiny. 1. podskupině ryb (22 ks) byla provedena aplikace směsi Penstrepten a PAMBA intramuskulárně do hřbetní svaloviny, 2. podskupině (21 ks) pak intraperitoneálně. Při intraperitoneální aplikaci bylo místo vpichu na levém boku ryby v průsečíku dvou myšlených přímk, z nichž první vychází ze základu prsní ploutve a probíhá souběžně s podélnou osou těla a druhá vychází asi ze středu břišní ploutve a probíhá kolmo na první přímk. Úhel vpichu se pohyboval kolem 10 až 15 stupňů, přičemž jehla procházela mezi dvěma následujícími šupinami. Používaly byly stejné dávky léčiv jako v roce 2004. Všechny ryby byly vypuštěny do toku Blanice. Vyhodnocení přežití v rámci jednotlivých skupin bylo provedeno 23.10. 2005, kdy byla chráněná rybí oblast za sníženého stavu vody (manipulace na VD Husinec) důkladně prolovena a odlovené značené ryby jednotlivých skupin spočítány a přeměřeny. Porovnání reprodukčních ukazatelů obou skupin bude provedeno při umělých výtěrech v následující sezóně (2006).

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí softwarového programu STATISTICA (verze 6.1 pro Windows, StatSoft). K porovnání skupin uvedených v tab. 9 byl použit dvouvýběrový t-test. Před analýzou byly skupiny navíc testovány na homogenitu variancí pomocí Leveneova testu. Ve všech případech byla homogenita variancí potvrzena. K porovnání skupin uvedených v tab. 10 byl použit Tukeyův HSD test.

#### **4.4 POSOUZENÍ VLIVU PODMÍNEK UMĚLÉHO CHOVU GENERAČNÍCH RYB NA KVALITU POHLAVNÍCH PRODUKTŮ, PLŮDKU A ADAPTABILITU POTOMSTVA TĚCHTO RYB V PROSTŘEDÍ VOLNÝCH VOD**

##### **4.4.1 Porovnání reprodukčních parametrů uměle odchovaných generačních pstruhů obecných s parametry původní volně žijící populace; hodnocení kvality jiker**

Sledování vybraných reprodukčních ukazatelů generačních pstruhů obecných odchovaných v podmínkách umělého chovu byla prováděna v průběhu 3 po sobě následujících výtěrových sezón (2002 – 2004). Hodnoty sledovaných parametrů zjištěné u chovaných ryb byly v jednotlivých letech porovnávány s výsledky zjištěnými u velikostně podobných jedinců vybraných z původní volně žijící populace. Práce byly součástí komplexu hodnocení, jejichž cílem bylo posoudit, zda podmínky umělého chovu ovlivňují kvalitu pohlavních produktů a potomstva chovaných generačních ryb. Jako referenční byla použita původní volně žijící populace pstruha obecného. Z potomstva této populace byly generační ryby odchovány.

Sledování byla prováděna na líhni MO ČRS Husinec (viz kapitola 4.2). V roce 1999 byly uměle vytřeny divoké generační ryby místní populace pstruha obecného. Část plůdku vykuleného na jaře 2000 byla použita pro odchov generačních ryb v kontrolovaných podmínkách. Odchovávané ryby byly krmeny pouze kompletními krmnými směsmi. První umělý výtěr těchto ryb proběhl na podzim 2002 (tříleté ryby), druhý a třetí výtěr pak na podzim 2003 (čtyřleté ryby) respektive 2004 (pětileté ryby). Současně byly uměle vytírány také velikostně odpovídající volně žijící ryby odlovené v toku řeky Blanice.

Volně žijící ryby byly každoročně odlovovány ve druhé polovině října pomocí elektrického agregátu v chráněné rybí oblasti a odděleně podle pohlaví umístovány do průtočných betonových nádrží. Obě skupiny ryb (volně žijící a chované) byly uměle vytírány ve stejných termínech. První výtěr proběhl vždy na začátku listopadu, druhý výtěr pak v polovině listopadu. Reprodukční parametry bylo zjišťováno v průběhu prvních výtěrů. Pro

yto účely bylo z každé skupiny náhodně vybráno přibližně 30 ks samic. Před umělým výtěrem byly jednotlivé ryby anestetizovány ve vodném roztoku 2-phenoxyethanolu o koncentraci  $0,3 \text{ ml.l}^{-1}$ , váženy s přesností na 0,1 g, byla zjišťována délka těla (SL) a celková délka (TL). Snůška jiker od každé samice byla individuálně vážena s přesností na 0,01 g, poté byl odebrán vzorek přibližně 30 ks jiker pro určení jejich velikosti a hmotnosti. Průměr jiker byl následně zjišťován měřením 10 ks jiker pomocí posuvného měřítka s přesností 0,1 mm. Hmotnost jiker byla zjišťována s přesností na 0,001 g.

Zjišťování koncentrací spermií u volně žijících a uměle chovaných samců bylo provedeno v roce 2002. V případě uměle chovaných samců se jednalo o 3leté ryby (6 ks), v případě volně žijících samců se jednalo o odlovené volně žijící ryby velikostně nejvíce odpovídající chovaným rybám (6 ks). Sperma bylo odebíráno (bez předchozí hormonální stimulace) odsátím do injekčních stříkaček z povrchu urogenitální papily a uchováváno na ledu při teplotě 0-4 °C. Koncentrace spermatu byla zjišťována počítáním v Bürkerově počítací komůrce (hemocytometru) po dvoustupňovém naředění fyziologickým roztokem 10 000krát.

Hodnocení biologické kvality jiker bylo provedeno v roce 2002. V tomto roce se pro účely porovnání podařilo ze skupiny volně žijících ryb vybrat jedince velikostně nejvíce odpovídající skupině uměle chovaných ryb. Cílem bylo mezi jednotlivými skupinami jiker porovnat délku inkubace, ztráty jiker v průběhu inkubace a průběh mortality nepřikrmovaného (hladovějícího) plůdku.

V průběhu umělého výtěru byly nasazeny k inkubaci na líhňářských vložkách 3 skupiny jiker:

- jikry od 15 divokých samic oplozené spermatem divokých samců (WxW)
- jikry od 15 uměle odchovaných samic oplozené spermatem divokých samců (FxW)
- jikry od 15 uměle odchovaných samic oplozené spermatem uměle odchovaných samců (FxF)

Uměle vytřené jikry od každé experimentální skupiny samic byly shromažďovány v samostatné nádobě. Každá skupina jiker byly oplozena mlíčem 10 samců. Sperma bylo odebíráno individuálně (od 10 divokých samců a od 10 uměle odchovaných samců) pomocí 5 ml injekčních stříkaček. Od každého samce byl odebrán přibližně 1ml spermatu. Ihned po odběru byly jednotlivé stříkačky ukládány na šupinkový led, kde byly přechovávány (max. 20 min) do vlastního oplození jiker. Oplození každé skupiny jiker bylo provedeno pomocí 5 ml spermatu, přičemž objem použitého spermatu jednotlivých samců byl stejný (0,5 ml/ks). Skupiny WxW a FxW byly oplozeny spermatem stejných samců. Vlastní oplození bylo iniciováno přidavkem vody. Po 15 minutách po oplození bylo z každé skupiny odebráno 300

s jiker, které byly po 100 ks umístěny k inkubaci do 3 inkubačních žlabových vložek (zbylé ikry byly po jednotlivých skupinách umístěny k inkubaci do Rückel-Vackových aparátů a na vylihlém potomstvu byla prováděna sledování uvedená v kap. 4.4.2. V průběhu inkubace byla sledována teplota vody a počty uhynulých jiker. Počet jiker uhynulých do stadia očních bodů byl brán jako kritérium oplozenosti jiker (Estay *et al.*, 2004). Průtok vody inkubačními žlaby se v průběhu inkubace pohyboval mezi 5 – 10 l.min<sup>-1</sup>. Kvalita jiker z hlediska obsahu zásobních látek pro raná stadia plůdku byla hodnocena na základě denního sledování mortality plůdku, který nebyl přikrmován, až do úplného úhynu obsádek (tzv. starvation test, např. Berejikian, 1996; Migaud *et al.*, 2001). Jelikož neexistuje závislost mezi chemickým složením jiker a jejich biologickou kvalitou (oplozeníschopnost, líhivost, atp.) (Trippel *et al.*, 2000; Lahnsteiner *et al.*, 2001), byla biologická kvalita jiker posuzována právě pomocí starvation testu.

Získaná data byla statisticky analyzována. Velikostní parametry sledovaných populací a hodnoty koncentrací spermií u samců byly porovnávány pomocí analýzy rozptylu (ANOVA). Jelikož reprodukční parametry jsou závislé na velikosti generačních ryb (např. Pekárková, 1956a; Lusk, 1968a; Bagenal, 1969; Lobon-Cervia *et al.*, 1997), byl proto z důvodu eliminace rozdílů mezi velikostně odlišnými skupinami populacemi použit ANCOVA test s využitím délky těla (SD) jako kovariety. Mnohonásobné porovnání skupin bylo provedeno pomocí Tuckeyho testu ( $\alpha < 0.05$ ) v programu Statgraphics 5. V rámci jednotlivých populací byly zjišťovány korelační vztahy mezi sledovanými parametry. Dále byly pomocí Kolmogorov-Smirnovova testu (KS test) v rámci testovaných skupin porovnávány distribuční funkce ( $F_{W \times W}$ ,  $F_{F \times F}$ ,  $F_{F \times W}$ ) vyjadřující úhyny hladovějícího plůdku v čase. Jako  $H_0$  byla testována hypotéza, že se distribuční funkce mezi sebou neliší (např.  $H_0: F_{W \times W} = F_{F \times F}$ ), alternativní byla hypotéza, že se distribuční funkce liší (např.  $H_A: F_{W \times W} \neq F_{F \times F}$ ). Kritické hodnoty testu byly stanoveny dle Anděla (1993). Citlivost testu byla nastavena pomocí Bonferroniho korekce.

#### 4.4.2 Vývoj pstruha obecného po vylíhnutí – srovnávací analýza vlivu rodičů z přirozeného a umělého prostředí

Byl posuzován vliv generačních jedinců pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.) z umělého chovu na kvalitu vlastního potomstva (v období raného vývoje). Dále byla věnována pozornost periodizaci a etapnosti ranného vývoje uvedeného druhu v období od vylíhnutí do začátku juvenilní periody v podmínkách umělého chovu při zajišťování výživy umělými krmivy.

Umělý výtěr generačních pstruhů obecných, původem z umělého chovu i z přirozeného prostředí řeky Blanice, proběhl dne 2.11.2002 na líhni MO ČRS Husinec (viz cap. 4.4.1). Pro výzkumné účely byly při umělém výtěru, realizovaném v jednom dni, vytvořeny 3 skupiny oplozených jiker, které byly dány k souběžné inkubaci na klasických líhňařských přístrojích (Rüchel-Vackovy aparáty). První skupina (A, WxW) byla vytvořena z jiker a spermatu výhradně volně žijících samic a samců, druhá skupina (B, FxF) byla vytvořena z pohlavních produktů výhradně uměle odchovaných tříletých generačních jedinců a třetí (C, FxW) skupina jiker byla vytvořena od samic z umělého chovu a samců z přirozeného prostředí řeky Blanice. Inkubace jiker všech tří skupin probíhala v kontrolovaných a registrovaných podmínkách prostředí. Odběr čerstvě vylíhnutých volných embryí z jednotlivých (A, B, C) skupin jiker proběhl dne 1.4.2003 při průměrné teplotě vody 4,8 °C (suma denních teplot vody od počátku inkubace do okamžiku vylíhnutí byla 360 °D). Další odchov jednotlivých skupin volných embryí a později larev a juvenilních jedinců probíhal odděleně na samostatných žlabech, ale při stejných podmínkách prostředí. Výživa byla zajišťována pomocí umělých krmných směsí. Odběry vzorků pro morfologickou (ontogenetickou) analýzu byly provedeny v následujících datech: 1.4.2003 (3x30 jedinců, tj. po 30 jedincích z jednotlivých skupin A, B, C), 14.4. (3x5), 26.4. (3x5), 6.5. (3x30), 21.5. (3x5) a 3.6. (A=44 jedinců, B=35 jedinců, C=47 jedinců). Odebraní jedinci byli fixováni ve 4% roztoku formaldehydu a jejich vlastní morfologické a morfometrické zpracování bylo provedeno na ÚBO AV ČR v Brně (Ing. M. Prokeš, CSc., Ing. M. Peňáz, DrSc., Prof. Ing. V. Baruš, DrSc.) v roce 2004. U všech zkoumaných fixovaných jedinců byla stanovena ontogenetická charakteristika a zjištěny absolutní hodnoty následujících morfometrických znaků (v mm) a hmotnosti (v mg): celková délka (TL), Smittova délka (FL), délka těla (SL), délka hlavy (lc), maximální výška těla, tj. včetně žl. váčku (ac1), výška těla bez žl. váčku (ac2), délka žloutkového váčku (lsv), výška žl. váčku (asv), šířka žl. váčku (lasv), šířka těla bez žl. váčku (lac), šířka ústního otvoru (las), průměr ústního otvoru při maximálním otevření úst (ds), hmotnost (w). Komparativní analýza hodnot jednotlivých znaků a faktoru hmotnostní kondice (FWC) byla provedena v době vylíhnutí (1.4.), v polovině pokusu (6.5.) a na konci pokusu (3.6.). Dále bylo provedeno srovnání celých vývojových řad (A, B, C) vyjádřených pomocí lineární ( $y = a + bx$ ), polynomické ( $y = a + bx + cx^2 + dx^3$ ) a funkční regrese ( $y = ab^x$ ). K výpočtu FWC byla použita TL. Statistické zpracování bylo provedeno pomocí programu Excel 2000. Při charakteristice průběhu ontogeneze byl použit tzv. princip periodizace, tj. rozčlenění raného vývoje na periody a etapy (Astaurov *et* Detlaf, 1975; Balon, 1985, 1986, 1999; Hensel, 1999; Kováč *et* Copp 1999; Moskal'kova, 1978; Pavlov, 1989; Pavlov, 1999;

Peňáz, 1983, 2000, 2001; Peňáz *et* Příhoda, 1981, Prokeš, 1977; Soin, 1980; Žil'ukas *et al.*, 1983 a další).

#### **4.4.3 Hodnocení vlivu podmínek umělého chovu generačních pstruhů obecných na genetickou variabilitu jejich potomstva - porovnání s původní populací**

Vliv podmínek umělého chovu generačních pstruhů obecných (1. generace) na genetické vlastnosti jejich potomstva byl posuzován pomocí biochemicko-genetických analýz, které byly provedeny v laboratoři genetiky ryb ÚŽFG AV ČR v Liběchově (RNDr. V. Šlechta, CSc.). Parametry zjištěné u potomstva odchovaných generačních ryb byly porovnány s obdobnými ukazateli zjištěnými u potomstva volně žijících ryb pocházejícího z přirozeného výtěru. Porovnávanými skupinami bylo potomstvo (půlroček) uměle odchovaných čtyřletých samic (chov MO ČRS Husinec) a divokých samců a potomstvo pocházející z přirozeného výtěru volně žijící populace pstruha obecného odlovené z řeky Blanice. Z každé skupiny bylo analyzováno 30 náhodně vybraných jedinců. Jako prostředek k popisu genetické struktury byla vybrána variabilita proteinů (tab. 15). Variabilní proteiny byly studovány pomocí elektroforetického dělení na škrobovém gelu, po rozdělení byly detekovány pomocí specifických druhů barvení. Metodicky bylo postupováno podle Šlechtové *et al.* (2001). Celkem byla analyzována variabilita 15 proteinových systémů, zahrnujících produkty 35 lokusů. Jako outgroup ke srovnání bylo použito populace pstruha obecného z lokality Žabie Oko z polské strany Vysokých Tater. Výskyt různých variant – alel v jednotlivých lokusech byl vyhodnocen a zpracován pomocí genetických statistických programů (BIOSYS, PHYLIP, apod.). Pro porovnání byly do statistické analýzy zahrnuty výsledky v minulosti získané u různých populací pstruha obecného v oblasti Šumavy. Na základě získaných hodnot genetické podobnosti byl vytvořen fenogram – strom znázorňující genetickou příbuznost zkoumaných populací.

#### **4.4.4 Hodnocení adaptability uměle odchovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního v podmínkách volných vod**

V květnu 2001 bylo z chovného Libotyňského potoka pomocí elektrického agregátu odloveno 74 ks násadových pstruhů obecných, kteří byli přechodně umístěni na žlabech v areálu líhně MO ČRS Husinec. Současně bylo ze sádky, ve které probíhal umělý odchov ročka ( $Po_1$ ), odloveno 76 ks. Obsádku potoka i sádky tvořilo potomstvo generačních ryb z chovného úseku řeky Blanice pod ÚN Husinec. Současně bylo z rybníka (extenzivní chov) odloveno 80 ks ročka lipana podhorního ( $Li_1$ ) a ze sádky 79 ks  $Li_1$  (umělý chov). Všechny



ryby pocházely ze stejného hejna generačních ryb extenzivně chovaných v rybničním prostředí. Ryby všech 4 skupin byly barevně označeny pomocí fluoresenčních elastomerových značek (systém VIE americké firmy NMT). Každá ryba byla pro případ, že by došlo ke ztrátě značky, označena 2 značkami (pstruh – horní a spodní čelist, lipan – operkulum a spodní čelist). 30 ks ryb z každé skupiny bylo změřeno a zváženo. Po manipulaci byly ryby vykoupány v roztoku manganistanu draselného. Dne 19.5.2001 bylo do cca 300 m úseku chráněné rybí oblasti řeky Blanice (odděleno 2 průchodnými jezy) společně vysazeno 76 ks uměle odchovaného  $Po_1$  (prům. hmotnost  $29,2 \pm 11$  g, SL =  $123 \pm 10$  mm), 74 ks  $Po$  z chovného potoka ( $41,4 \pm 18$  g, SL =  $133 \pm 23$  mm), 79 ks uměle odchovaného  $Li_1$  ( $23,5 \pm 8$  g, SL =  $124 \pm 14$  mm) a 80 ks  $Li_1$  z extenzivního rybničního chovu ( $18,9 \pm 6$  g, SL =  $118 \pm 13$  mm). Před vysazením ryb byl výše zmíněný úsek opakovaně proloven elektrickým agregátem, přičemž bylo zjišťováno zastoupení jednotlivých druhů ryb a v případě pstruha obecného a lipana podhorního i zastoupení jednotlivých velikostních kategorií (roček, dvouleté ryby, generační ryby). Dne 20.10. 2001 byly elektrickým agregátem proloveny 3 na sebe navazující přibližně 300 m úseky, přičemž úsek, do kterého byly ryby vysazeny, se nacházel uprostřed. Odlov byl prováděn za sníženého stavu vody (manipulace na VD Husinec), který umožňoval efektivní odlov a znemožňoval migraci ryb mezi sledovanými úseky. Úseky byly proloveny dvakrát. Všechny odlovené ryby byly umísťovány do haltýřů (odděleně z každého úseku). Po ukončení odlovu byly vybrány označené ryby obou druhů, které byly následně počítány, měřeny a váženy.

V případě pstruha obecného byl obdobný experiment realizován ještě v roce 2004, kdy byla testována adaptabilita potomstva uměle odchovaných generačních samic v podmínkách volných vod. Dne 20.5. 2004 bylo do stejného úseku jako v roce 2001 vysazeno 100 ks ročka pstruha obecného odchovaného v podmínkách umělého chovu MO ČRS Husinec. Jednalo se o potomstvo z prvního umělého výtěru 1. generace uměle odchovaných samic (výtěr v roce 2002). Jikry těchto samic byly oplozeny spermatem volně žijících samců z řeky Blanice. Jako referenční skupina bylo použito 100 ks stejně starých ryb, které pocházely z přirozeného výtěru a byly odloveny 20.5. 2004 přímo z experimentálního úseku řeky Blanice. Ryby obou skupin byly opět barevně označeny pomocí fluoresenčních elastomerových značek (systém VIE americké firmy NMT). Ke značení ryb z umělého chovu byla použita oranžová barva, referenční skupina byla označena červeně. Každá ryba byla pro případ, že by došlo ke ztrátě značky, označena 2 - 3 značkami v oblasti hlavy. 32 náhodně vybraných jedinců z každé skupiny bylo změřeno a zváženo. Průměrná hmotnost nasazovaných ryb z umělého chovu byla  $14,3 \pm 10,8$  g, jejich průměrná SL byla  $93,9 \pm 24,1$  mm. Průměrná hmotnost referenčních

ryb byla  $29,6 \pm 9,0$  g, jejich průměrná SL byla  $124,2 \pm 14,1$  mm. Po manipulaci byly ryby vykoupány v roztoku manganistanu draselného. Před vysazením ryb byl úsek vysazení opět opakovaně proloven elektrickým agregátem, přičemž bylo zjišťováno zastoupení jednotlivých druhů ryb a v případě pstruha obecného a lipana podhorního i zastoupení jednotlivých velikostních kategorií (roček, dvouleté ryby, generační ryby). Zároveň byly získány i referenční ryby. Dne 23.10. 2004 byly elektrickým agregátem proloveny 3 na sebe navazující přibližně 300 m úseky, přičemž úsek, do kterého byly ryby vysazeny, se nacházel uprostřed. Odlov byl prováděn opět za sníženého stavu vody (manipulace na VD Husinec). Úseky byly proloveny dvakrát. Všechny odlovené ryby byly umísťovány do haltýřů (odděleně z každého úseku). Po ukončení odlovu byly vybrány označené ryby obou skupin, které byly následně počítány, měřeny a váženy.

Statistické porovnání velikostních parametrů mezi jednotlivými skupinami a v rámci skupin (rozdíly jaro x podzim) bylo v případě prokázání normálního rozdělení dat a homogenity variancí prováděno analýzou rozptylu (ANOVA). Mnohonásobné porovnání skupin bylo provedeno pomocí HSD testu pro nestejný počet pozorování (porovnávané skupiny byly tvořeny nestejnými počty jedinců). V případě, kdy nebyly splněny podmínky pro ANOVu, byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test.

#### **4.5 HODNOCENÍ EFEKTIVITY ODCHOVU NÁSAD PSTRUHA OBECNÉHO VYSAZOVANÉHO VE STADIU ČTVRTROČKA V ODCHOVNÝCH POTOCÍCH**

Sledování probíhala ve vybraných co nejvíce podobných úsecích odchovných potoků – přítoků řeky Blanice. Do těchto potoků bylo vysazováno pouze potomstvo volně žijících ryb. Byly porovnávány velikostní parametry (TL, SL, hmotnost) ryb stejného původu a stáří, které byly vysazeny do odchovných potoků ve fázi 3 týdny krmenného plůdku a ve fázi uměle odchovaného čtvrtročka. Počet vysazovaných ryb na jednotku plochy byl ve všech sledovaných potocích přibližně stejný (přibližně  $1 \text{ ks.m}^{-2}$ ). Na počátku června roku 2005 byla sledování provedena na potocích Dubský (nasazen čtvrtročkem na konci června 2004) a Živný (nasazen 3 týdny odkrmovaným plůdkem na počátku května 2004). Na každém potoce bylo odloveno a měřeno 50 ks náhodně vybraných jedinců. V listopadu 2005 byly obdobným způsobem porovnány obsádky 4 potoků nasazených na jaře 2005, z nichž 2 (Farský potok, potok Mlenec) byly nasazený plůdkem a 2 (Dubský potok, Libotyňský potok) čtvrtročkem. Sledované úseky potoků Mlenec a Libotyňský je možno považovat za více eutrofizované

v porovnání se sledovanými úseky na potocích Farský a Dubský. Jako referenční byly použity stejně staré ryby pocházející z přirozeného výtěru, které byly odloveny z toku Blanice. Statistická vyhodnocení výsledků byla prováděna pomocí Kruskal-Wallisova testu.

#### **4.6 NÁVRH OPATŘENÍ UMOŽŇUJÍCÍCH ZVÝŠENÍ PRODUKCE KVALITNÍCH A ADAPTABILNÍCH NÁSAD PSTRUHA OBECNÉHO A LIPANA PODHORNÍHO**

Na základě provedených sledování a experimentálních prací byla pro potřeby rybářské praxe navržena opatření, jejichž realizace v podmínkách chovů zabývajících se produkcí násad pstruha obecného a lipana podhorního by měla přispět k efektivnějšímu využívání přírodních zdrojů a tím i ke zvýšení produkce násadového materiálu pro zarybňování volných vod.

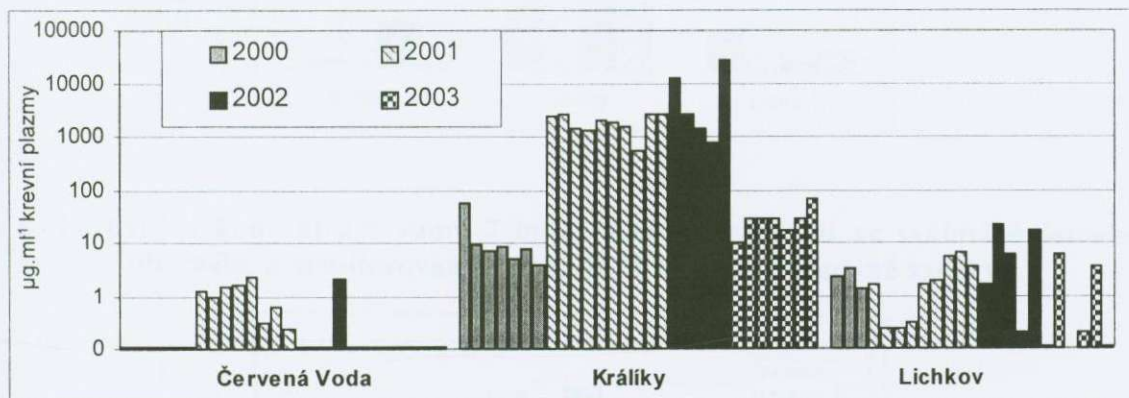
## 5. VÝSLEDKY A DISKUSE

### 5.1 HODNOCENÍ POTENCIÁLNÍHO VLIVU KONTAMINACE VODNÍHO PROSTŘEDÍ NA PŘIROZENOU REPRODUKCI LOSOSOVITÝCH RYB

#### 5.1.1 Tichá Orlice

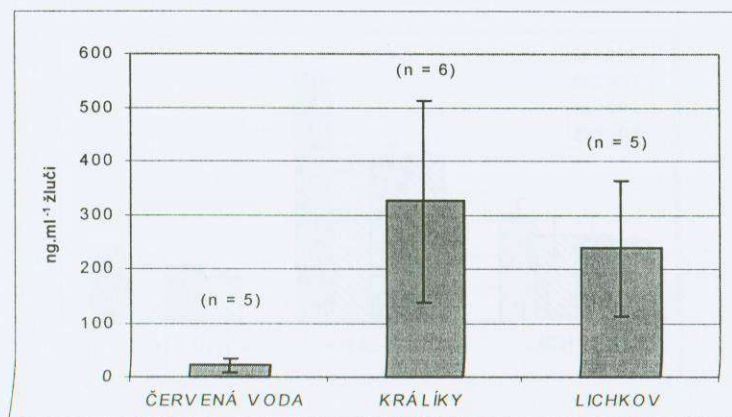
Hodnoty koncentrace vitellogeninu v krevní plazmě samců pstruha obecného z monitorovaných lokalit řeky Tiché Orlice a jejího přítoku Kralického potoka jsou uvedeny na obr. 5. V průběhu celého sledovaného období let 2000 – 2003 byly nejvyšší hodnoty zjišťovány v lokalitě Kralický potok pod městem Králíky. Podle výše naměřené koncentrace vitellogeninu následovala lokalita Lichkov a nejnižší hodnoty byly zjišťovány v lokalitě Červená Voda. Statisticky vysoce významné rozdíly byly po celé sledované období zjišťovány mezi lokalitami Červená Voda a Králíky ( $P < 0,01$ ); statisticky vysoce významné ( $P < 0,01$ ) nebo významné ( $P < 0,05$ ) rozdíly byly zjištěny mezi lokalitami Králíky a Lichkov.

**Obr. 5: Porovnání koncentrace vitellogeninu v krevní plazmě samců pstruha obecného z monitorovaných lokalit Tiché Orlice**

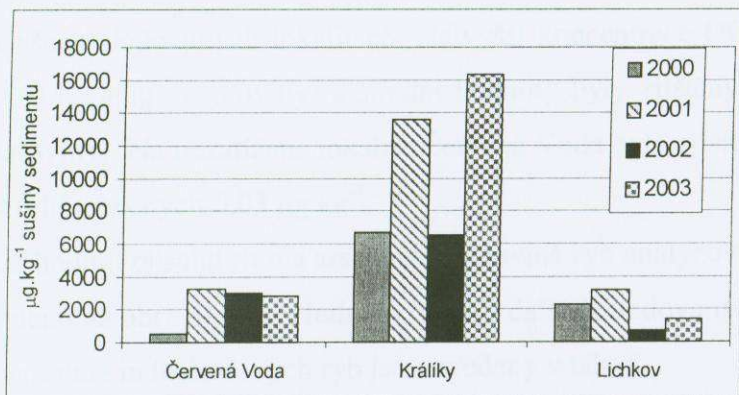


Na obr. 6 jsou znázorněny průměrné hodnoty obsahu 1-OHPY ve žluči analyzovaných ryb. Významně zvýšené hodnoty v lokalitách Králíky a Lichkov indikují kontaminaci vodního prostředí PAH. Tuto skutečnost potvrzují i hodnoty obsahu PAH zjištěné v sedimentech (obr. 7). Z perzistentních organochlorovaných polutantů byla dále prokázána kontaminace lokalit Králíky a Lichkov PCB (obr. 8) a HCB (obr. 9).

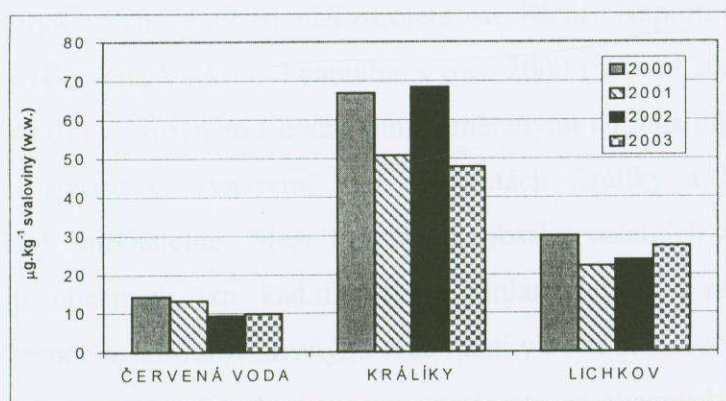
Obr. 6: Porovnání koncentrace 1-hydroxypyrenu ve žluči pstruha obecného z monitorovaných lokalit Tiché Orlice



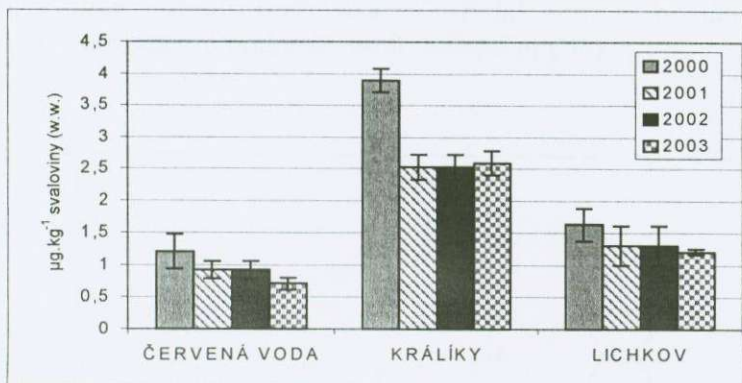
Obr. 7: Porovnání obsahu PAH v sušině sedimentu dna monitorovaných lokalit Tiché Orlice (směsné vzorky)



Obr. 8: Porovnání koncentrace sumy 7 indik. Kongenerů PCB ve svalovině pstruha obecného z monitorovaných lokalit Tiché Orlice (směsné vzorky)



**Obr. 9: Porovnání koncentrace HCB ve svalovině pstruha obecného z monitorovaných lokalit Tiché Orlice**



Hodnoty obsahu HCH (rozpětí hodnot - Červená Voda: 0,3-1,0; Kralický potok: 0,2-1,0; Lichkov: 0,1-0,8  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) a DDT (rozpětí hodnot - Červená Voda: 33,3-42,9; Kralický potok: 44,2-53,0; Lichkov: 27,4-34,3  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) ve svalovině pstruhů obecných byly přibližně odpovídající na všech sledovaných lokalitách. Nejvyšší koncentrace OCS byla naměřena na lokalitě Králíky (0,1  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  svaloviny) a střední hodnoty byly zjištěny na lokalitě Lichkov (0,05  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  svaloviny). Na nezatížené lokalitě Červená Voda byla zjištěna koncentrace OCS ve svalovině pstruhů obecných 0,03  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ .

Porovnání hodnot obsahu rtuti a arsenu ve svalovině ryb analyzovaných v jednotlivých lokalitách je uvedeno na obr. 10 a 11. Hodnoty obsahu dalších sledovaných kovů (Pb, Cd, Cu, Zn, Cr, Ni) ve svalovině indikátorových ryb jsou uvedeny v tab. 5.

Nejvyšší a srovnatelný obsah rtuti ve svalovině byl naměřen u pstruhů obecných odlovených v lokalitách Kralický potok a Lichkov, a to jak v roce 2000, tak 2001. Výrazně signifikantně nižší v obou časových obdobích ( $P < 0,01$ ) byl obsah rtuti ve svalovině pstruhů obecných z lokality Červená Voda (tj. nad zdrojem znečištění). Naproti tomu ve svalovině ryb ze stejné lokality (Červená Voda) byl naměřen v roce 2000 i v roce 2001 signifikantně vyšší obsah arsenu ( $P < 0,01$ ) ve srovnání s hodnotami naměřenými na lokalitách Králíky a Lichkov. Hodnoty obsahu arsenu ve svalovině ryb v lokalitách Králíky a Lichkov byly v obou časových obdobích srovnatelné. Mezi hodnotami obsahu ostatních sledovaných kovů ve svalovině pstruhů obecných, tzn. kadmia, olova, zinku, chromu a niklu, nebyly nalezeny signifikantní difference mezi porovnávanými lokalitami v obou sledovaných obdobích (2000 a 2001). Výjimkou byla měď, jejíž obsah ve svalovině pstruhů obecných odlovených v lokalitě Králíky v roce 2000 byl vyšší ( $P < 0,05$ ) ve srovnání s lokalitou Červená Voda a v roce 2001 vyšší ( $P < 0,05$ ) ve srovnání s lokalitou Lichkov.

v lokalitě Kralický potok byl zjištěn u pstruhů obecných v lokalitě Tichá Orlice – Lichkov, tj. zhruba 7 km pod zaústěním Kralického potoka do Tiché Orlice. U pstruhů obecných odlovených v Kralickém potoce byl rovněž zjištěn vyšší obsah mědi ( $P < 0,05$ ) ve srovnání s hodnotami naměřenými na lokalitách Červená Voda a Lichkov.

Zvýšené hodnoty obsahu rtuti a mědi ve svalovině pstruhů obecných z lokality Kralický potok byly v souladu se zvýšenými obsahy těchto kovů v sedimentech dna. Naproti tomu zvýšené obsahy zinku, chromu, niklu, ale i olova a kadmia v sedimentech dna v lokalitě Kralický potok se neprojeví navýšením obsahu těchto kovů ve svalovině ryb. Tyto kovy však nejsou na rozdíl od rtuti a arsenu považovány za látky s výraznými kumulativními, schopnostmi (Svobodová *et al.*, 1996). Pokud se týká arsenu, tak obsah v sedimentech dna byl na všech třech sledovaných lokalitách prakticky shodný. Přestože signifikantně zvýšené hodnoty arsenu byly naměřeny ve svalovině pstruhů obecných v lokalitě Červená Voda, nepředpokládáme, že ve srovnání s ostatními lokalitami je tato lokalita významně více antropogenně kontaminovaná. Lokalita Červená Voda je prakticky v pramenné oblasti řeky Tiché Orlice. Fyzikálně – chemické vlastnosti vody jsou zde odlišné od vlastností na níže položených lokalitách, které jsou již zasaženy antropogenním znečištěním (komunální a průmyslové znečištění). V lokalitě Červená Voda přichází v úvahu kontaminace ze zemědělské výroby. Důkazem toho jsou hodnoty DDT a jeho metabolitů a HCH, které byly na všech třech sledovaných lokalitách prakticky shodné. Další zdroje kontaminace této lokality nebyly v přílehlé oblasti zjištěny. Rozdílné fyzikálně – chemické vlastnosti vody na lokalitě Červená Voda ve srovnání s níže položenými lokalitami se týkají především základních hodnot, tj. teploty vody, pH, hodnot N, P, CHSK, BSK<sub>5</sub>. Teplota vody v pramenné oblasti Tichá Orlice je v průběhu vegetačního období průměrně o 2 °C nižší. Vyšší kumulaci arsenu v tkáních ryb při nižší teplotě vody prokázali Chan *et Huff* (1997) a Svobodová *et al.* (2002). Chan *et Huff* (1997) uvádějí, že při snížené teplotě vody dochází ke snížení detoxikačních procesů a tedy také k nižšímu vylučování arsenu z organismu. Navíc nižší hodnoty pH (v rozmezí 5 – 6) a nižší trofie vody vytvářejí příznivé podmínky pro intenzivnější přechod arsenu ze sedimentů do potravního řetězce (Pitter, 1999).

Hodnoty koncentrace vitellogeninu samců pstruha obecného na lokalitě Králíky dosahovaly hodnot zjištěných u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) po intraperitoneální aplikaci 17 $\beta$ -estradiolu (Christiansen *et al.*, 1998). Přirozený 17 $\beta$ -estradiol je používán jako standard působení endokrinních disruptorů s estrogením účinkem. Zjištěné hodnoty u samců z lokality Králíky dokonce dosahovaly koncentrací naměřených u samic, které jsou v rámci každé sledované lokality využívány jako pozitivní kontrola. Jelikož rtuť a většina

sledovaných organických polutantů je řazena do skupiny látek ovlivňujících endokrinní soustavy organismů (Keith 1997), je na základě jejich významně zvýšených koncentrací v lokalitách Králíky a Lichkov možno usuzovat na souvislost s významně zvýšenými koncentracemi vitellogeninu v krevní plazmě indikátorových ryb.

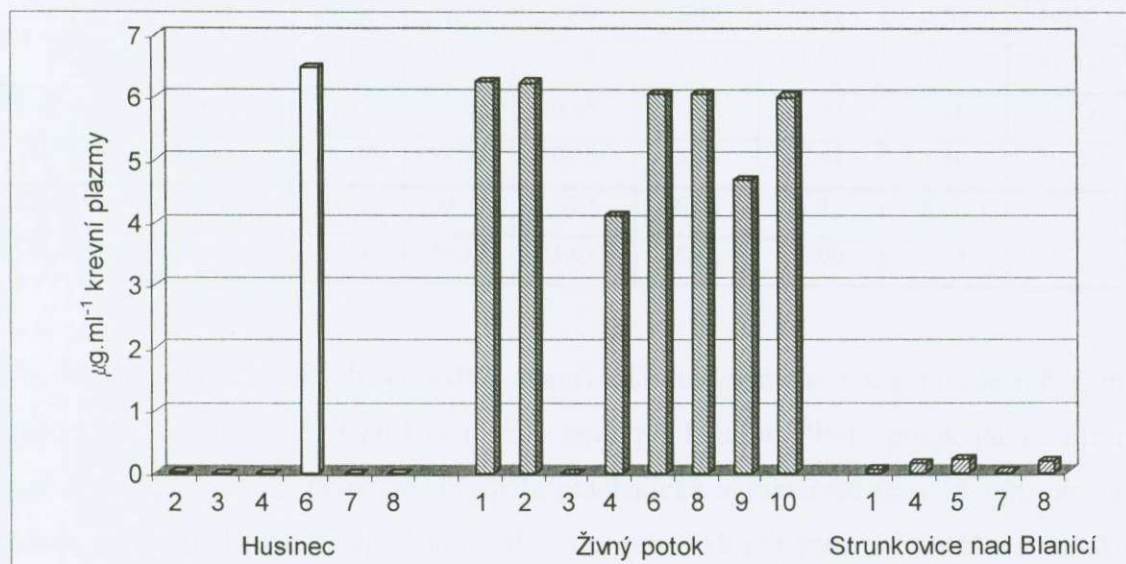
Na základě zjištěných výsledků je možno usuzovat, že průmyslové zatížení Kralického potoka a následně toku Tiché Orlice může významným způsobem negativně ovlivňovat úspěšnost reprodukce ryb vyskytujících se v těchto lokalitách.

### 5.1.2 Blanice

Porovnání obsahu vitellogeninu v krevní plazmě samců pstruha obecného z lokalit řeky Blanice je znázorněno na obr. 12. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny v lokalitě Živný potok, následovala lokalita Strunkovice nad Blanicí a nejnižší hodnoty byly zjištěny v lokalitě Husinec. Hodnoty zjišťované v lokalitě Živný potok byly statisticky významně ( $p < 0,01$ ) vyšší oproti hodnotám zjištěným v lokalitách Husinec a Strunkovice nad Blanicí. Koncentrace vitellogeninu u 1 kusu v lokalitě Husinec byla mnohonásobně vyšší při porovnání s ostatními hodnotami z této lokality a byla srovnatelná s hodnotami zjišťovanými na Živném potoce. Možným vysvětlením je pravděpodobná migrace této ryby z níže položené zatížené lokality Živný potok. Průměrný obsah 1-hydroxypyrenu ve žluči pstruha obecného z lokality Husinec byl  $435 \text{ ng.ml}^{-1}$ , následovala lokalita Živný potok ( $1\,456 \text{ ng.ml}^{-1}$ ) a Strunkovice nad Blanicí ( $1\,630 \text{ ng.ml}^{-1}$ ). Statisticky významný rozdíl však mezi lokalitami řeky Blanice v obsahu 1-hydroxypyrenu ve žluči pstruha obecného potvrzen nebyl. Hodnoty obsahu POPs ve svalovině a játrech pstruha obecného jsou obecně vyšší v lokalitách Strunkovice nad Blanicí a Živný potok oproti kontrolní lokalitě Husinec (tab. 7). Výjimkou je obsah DDT a to hlavně metabolitu p,p-DDE, kde je tato tendence opačná. Hodnoty obsahu 7 indikátorových kongenerů PCB, DDT a jeho metabolitů, izomerů HCH, HCB a OCS se v sedimentu dna vybraných lokalit pohybovaly až na výjimky (p,p-DDE) pod mezí stanovitelnosti použité metody.



**Ob. 12: Porovnání obsahu vitellogeninu v krevní plazmě pstruha obecného z lokalit řeky Blanice**



**Tab. 7: Obsah sledovaných polutantů ve směsných vzorcích tkání pstruhů obecných odlovených v lokalitách řeky Blanice**

Obsah 7 indikátorových kongenerů PCB (µg.kg<sup>-1</sup> w.w.)

Vzorek	PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 138	PCB 153	PCB 180	Σ PCB
Husinec - svalovina	0,21	0,20	0,89	0,60	2,54	4,49	1,78	10,70
Husinec - játra	0,17	0,19	0,66	0,51	2,25	3,18	1,49	8,44
Živný potok - svalovina	0,53	0,45	2,25	0,88	4,28	6,22	2,51	17,12
Živný potok - játra	0,47	0,38	1,61	0,75	3,25	4,38	2,38	13,23
Strunkovice - svalovina	0,80	0,56	1,94	1,09	4,41	7,33	3,95	20,08
Strunkovice - játra	0,64	0,39	1,59	0,91	3,73	5,55	3,23	16,04

Obsah perzistentních organochlorových polutantů (µg.kg<sup>-1</sup> w.w.)

Vzorek	HCB	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	OCS
Husinec - svalovina	0,68	0,06	0,17	0,12	0,02
Husinec - játra	0,90	0,13	0,27	0,20	0,04
Živný potok - svalovina	1,52	0,09	0,18	0,24	0,02
Živný potok - játra	1,76	0,15	0,18	0,30	0,03
Strunkovice - svalovina	1,73	0,15	0,23	0,28	0,03
Strunkovice - játra	1,94	0,11	0,22	0,16	0,05

### Obsah DDT a jeho metabolitů ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ w.w.)

Chrakterizace vzorku	o,p-DDE	p,p-DDE	o,p-DDD	p,p-DDD	o,p-DDT	p,p-DDT	$\Sigma$ DDT
Husinec - svalovina	0,09	37,32	0,84	3,40	1,27	3,57	46,50
Husinec - játra	0,13	40,48	0,88	3,37	1,01	1,70	47,57
Živný potok - svalovina	0,05	17,66	0,95	2,93	0,88	3,26	25,72
Živný potok - játra	0,15	14,55	0,58	3,08	0,41	1,40	20,17
Strunkovice - svalovina	0,12	39,37	1,32	6,08	2,23	6,00	55,12
Strunkovice - játra	0,11	28,13	1,02	5,48	1,06	2,35	38,15

Na základě uvedených výsledků stanovení vitellogeninu v krevní plazmě pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario*) je možno hodnotit lokalitu Živný potok jako zatíženou látkami s xenoestrogením účinkem. Přestože prachatická aglomerace (cca 15 000 obyvatel) disponuje moderní čistírnou odpadních vod, vodní prostředí je významně zatěžováno látkami narušujícími endokrinní systém vodních organismů. Přestože v tkáních ryb z lokalit Živný potok a Strunkovice byly zjištěny oproti lokalitě Husinec mírně vyšší obsahy sledovaných průmyslových polutantů, lze předpokládat, že významné zvýšení koncentrace vitellogeninu v lokalitě Živný potok způsobily spíše další látky s estrogením účinkem běžně se vyskytující v komunálních odpadních vodách (např. steroidní léčiva a jejich metabolity, alkylfenoly, „musk“ sloučeniny, atp.) (Rimkus *et al.*, 1997; Kolpin, 2002; Lye *et al.*, 1999). V době realizace studie však nebyly k dispozici vhodné analytické metody a finanční prostředky potřebné ke stanovení těchto látek.

Bylo tedy prokázáno, že i běžné komunální znečištění tekoucích vod může v lokalitách, ve kterých nedochází k výraznému naředění odpadních vod (i vod prošlých čistírenským procesem) významně ovlivňovat hormonální soustavy ryb a tedy potenciálně mít negativní vliv na úspěšnost reprodukce. Takovéto typy vod nelze doporučit k odchovu generačních ryb pro účely umělé reprodukce.

## 5.2. ODCHOV GENERAČNÍCH PSTRUHŮ OBECNÝCH A LIPANŮ PODHORNÍCH V KONTROLOVANÝCH PODMÍNKÁCH

Oplozenost jiker pstruha obecného odloveného z řeky Blanice v roce 1999 byla velmi dobrá a pohybovala se kolem 95 %. Délka inkubace se pohybovala v rozmezí 360 – 380 °D, což je v souladu s údaji zjišťovanými u jiných populací na našem území, jejichž jikry byly

inkubovány při podobných teplotách (Podubský, 1958; Baruš *et al.*, 1995). Celkem bylo získáno přibližně 80 000 ks váčkového plůdku. Přibližně 20 000 ks plůdku bylo pomocí krmných směsí dále odchováno na mělkém žlabu za účelem budoucího vytvoření generačního hejna. Oplozenost jiker lipanů odlovených v roce 2000 z toku Blanice se pohybovala kolem 85 %, délka jejich inkubace se pohybovala v rozmezí 200 – 220 °D. Obdobné hodnoty uvádí i Nieslanik (1957), Carmie *et al.* (1985), Lusk *et al.* (1987), Ryšavý (2000). Celkem bylo získáno přibližně 100 000 ks váčkového plůdku, z nichž přibližně 20 000 ks bylo dále odchováno v podmínkách umělého chovu za účelem budoucího vytvoření generačního hejna.

V průběhu následného odchovu bylo zjištěno, že plůdek pstruha obecného i lipana podhorního poměrně ochotně přijímal granulované krmné směsi. Ztráty v průběhu prvních 6 týdnů (od začátku přijímání potravy) odchovu plůdku pstruha obecného nepřesahovaly 15 %, u lipana podhorního 20 %. Bylo tedy zjištěno, že již v prvních fázích odchovu plůdku těchto druhů lze v mnoha případech těžko dostupný zooplankton nahradit granulovanou kompletní krmnou směsí. Je však nutno dodržovat určité zásady (zpočátku ruční krmení s vysokou frekvencí, důsledné čištění nádrží, pravidelná kontrola zdravotního stavu obsádky, používání kvalitních krmných směsí pokud možno s co nejnižším obsahem tuku, atp.). Tento způsob odchovu je méně náročnější na obsluhu (obstarávání planktonu), umožňuje pravidelný přísun krmiva v odpovídajícím množství a z velké části eliminuje zavlečení parazitárních infekcí. Právě parazitární infekce (např. *Chilodonella cyprini*) vzniklé v důsledku podávání přirozené potravy způsobují v chovech vysoké ztráty Příhoda *et al.* (1989). Vytvoření návyku na granulované krmné směsi už v rané fázi vývoje plůdku pstruha obecného a lipana podhorního bylo základním předpokladem pokračování jeho chovu v kontrolovaných podmínkách.

Odchov ročka pstruha obecného i lipana podhorního představoval nejrizikovější fázi odchovu, která byla spojena s významnými ztrátami. Nejzávažnějším a limitujícím faktorem bylo parazitární onemocnění, jehož původce byl kožovec (*Ichthyophthirius multifiliis*). Tento parazit, který velmi často způsobuje rozsáhlé škody v akvakulturních chovech (Rintamaki-Kinnunen *et al.*, 2005), se masivně objevil po vzestupu teploty vody nad 18 °C. Přestože infekce byla včas diagnostikována a byla prováděna preventivní i léčebná opatření (zvýšení průtoku vody, snížení hladiny, léčebné koupele, medikace krmiva dimetridazolem (léčebná dávka 56 mg.kg<sup>-1</sup> obsádky po dobu 10 dnů – viz Čítek *et al.*, 1997), byly (především v případě pstruha obecného) zaznamenány významné ztráty. V roce 2000 se podařilo v kontrolovaných podmínkách odchovat přibližně 5 000 ks ročka (33 % z nasazeného množství odkrmeného plůdku), který byl v následných letech dále odchováván až do stadia generačních ryb.

Velikost uměle odchovaných ročků pstruha obecného (měřeno na konci října 2000) se pohybovala v rozmezí 15 – 40 g a 10 – 15 cm (TL). V případě lipana podhorního bylo v roce 2000 v zemním rybníčku intenzivním způsobem odchováno přibližně 5 000 ks ročka lipana podhorního (50 % z vysazeného odkrmeného plůdku). Velikost ryb v listopadu 2000 se pohybovala mezi 12 – 14 cm (15 – 30 g).

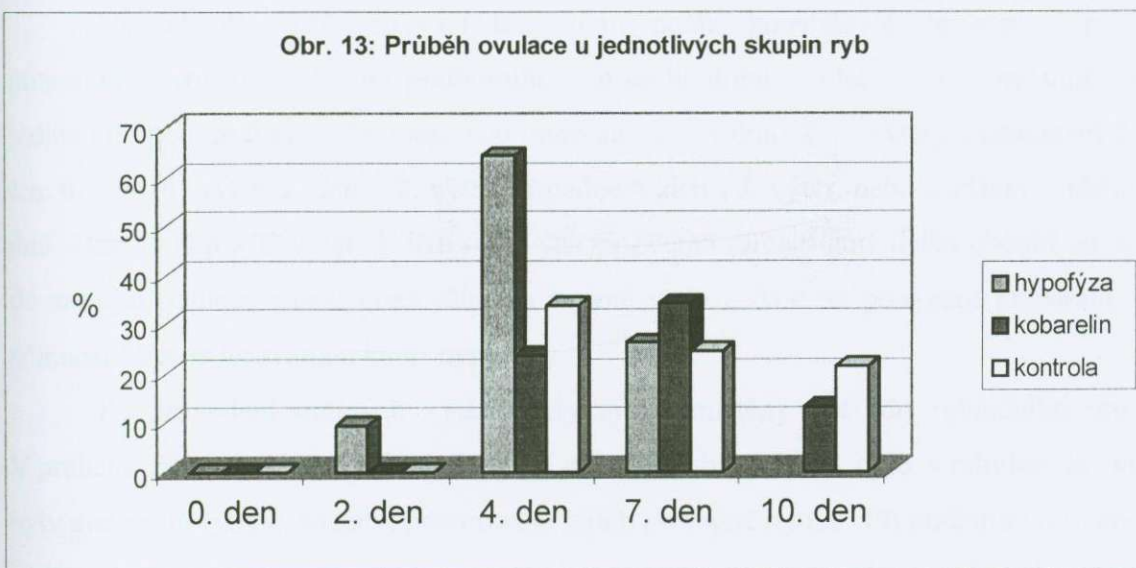
Na základě zkušeností s odchovem ročků pstruha obecného a lipana podhorního získaných v dalších letech (2001 – 2005) bylo možno konstatovat, že největší problémy s výskytem parazitárních a bakteriálních onemocnění spojené s významnými ztrátami (i přes 90 %) byly opakovaně pozorovány v zemních rybníčcích, ve kterých nebylo možno infekční onemocnění efektivně eliminovat. Vyšší přežití (o 20 – 30 %, v případě chladného léta i více) bylo dosahováno v silně průtočných betonových sádkách s pevným dnem. Od roku 2002 nebyly již k odchovu pstruha obecného zemní rybníčky využívány. Problémy s ichtyoftiriózou byly vyřešeny v roce 2004 zavedením žlabového systému (průtočné plastové žlaby, automatická krmítka, vzduchování) do technologie odchovu pstruha v prvním roce života. Žlabový odchov pstruha obecného v letech 2004 i 2005 probíhal v průběhu prvních 3 měsíců prakticky beze ztrát. K významným ztrátám začalo docházet v obou letech na konci června při vzestupu teploty vody nad 18 °C. Na základě vyšetření ryb (přestože nálezy parazitů nebyly významné) byly provedeny antiparazitární koupele. Opakovaně prováděná léčebná opatření sice snížila ztráty, nicméně dále docházelo k postupnému hynutí obsádky, ačkoliv veškerá vyšetření již byla negativní. V obou letech přestalo docházet k úhynům obsádek v měsíci září při poklesu teploty vody pod 18 °C. Po celé letní období nebyly na žlabech zjištěny pstruha ohrožující kyslíkové deficity (Svobodová *et al.*, 1987; Čítek *et al.*, 1997) a teplota vody dosahovala maximálně 20 °C. Tato hraniční teplota byla však dosahována výjimečně. V referenčním toku Blanice (zdroj vody pro odchovný areál MO ČRS Husinec) nebyly úhyny tohoročních ryb zjištěny. Přestože teplota vody nedosahovala letálních hodnot pro pstruha obecného (Svobodová *et al.*, 1987; Carline *et Machung*, 2001), je pravděpodobné, že zřejmě nejvýznamnější vliv na mortalitu obsádky mělo dlouhodobé působení vyšších teplot než je druhové optimum (Svobodová *et al.*, 1987). Vysokou mortalitu chovaných pstruhů obecných a sivenů amerických v letním období pozorovali také Carline *et Machung*, 2001 a Vincent (1960). Tito autoři zjistili, že chované populace měly významně sníženou adaptační schopnost k vysokým teplotám oproti volně žijícím populacím. V případě lipana podhorního byly nejlepší výsledky intenzivního odchovu ročka dosaženy v roce 2005, kdy byl plůdek odchováván v plastových čtvercových nádržích (objem vody 0,8 m<sup>3</sup>). Z 5 000 nasazených kusů odkrmeného plůdku na 1 nádrž bylo v listopadu průměrně sloveno 4 200 ks

14 dnů. V důsledku vytvoření paralelního generačního hejna v kontrolovaných podmínkách byla významně zvýšena produkce jiker a následně plůdku pstruha obecného v MO ČRS Husinec.

### 5.3 ZVYŠOVÁNÍ EFEKTIVITY UMĚLÉ REPRODUKCE LIPANA PODHORNÍHO

#### 5.3.1 Synchronizace ovulace u samic lipana podhorního

Již druhý den po injekci došlo k ovulaci u 4 ks jikernaček (9,5 %) ze skupiny I. - injikované kapří hypofýzou. U ostatních skupin zatím u žádného kusu k ovulaci nedošlo. 4. den experimentu ovulovalo ve skupině I. 27 ks ryb (64,3%), ve skupině II. (Kobarelin) 9 ks (23,68%) a ve skupině III. (kontrola) 22 ks (33,84%). 7. den experimentu proběhla ovulace ve skupině I. u 11 ks (26,19%), ve skupině II. u 13 ks (32,5%) a ve skupině III. u 16 ks (24,62%). 7. den experimentu tedy bylo celkově dosaženo ve skupině injikované kapří hypofýzou ovulace u 100% jikernaček. 10. den experimentu bylo dosaženo ovulace u 5 ks (12,5%) samic injikovaných Kobarelinem (skupina II.) a u 14 ks (21,54%) samic kontrolních (skupina III.). Tento den však už jikry v obou skupinách byly velice špatné kvality, hrudkovité konzistence a s příměsí krve. Experiment byl proto ukončen. Průběh experimentu je znázorněn na obrázku 13.



Celkem tedy bylo vytřeno ve skupině s použitím hypofýzy 100 %, ve skupině s použitím Kobarelinu 71,04 % a v kontrolní skupině 80 % testovaných samic lipana podhorního. Délka časového intervalu od injekce do ovulace se v případě kapří hypofýzy pohybovala v rozmezí 2 – 7 dnů (22 – 64 °D), přičemž 4. – 7. den bylo vytřeno 90,5 % injikovaných jikernaček, z nichž maximum ovulovalo 4. den experimentu. V případě Kobarelinu se délka tohoto intervalu pohybovala v rozmezí 4 – 10 dnů (35 – 70 °D). Opět nejvíce jikernaček bylo vytřeno 4. – 7. den (57,9 % z celkového, 78,57 % z ovulujícího počtu ryb v této skupině) s maximem v 7. dni experimentu. V kontrolní skupině docházelo prakticky rovnoměrně k ovulaci 4. – 10. den (35 – 70 °D) s maximem 4. den. Účinky kapří hypofýzy se začaly projevovat dříve než účinky Kobarelinu (rozdíl přibližně 1 – 2 dny). Účinky Kobarelinu v tomto experimentu nebyly v porovnání s výsledky Kouřila *et al.* (1987a, 1987b) a Kouřila *et Bartha* (1989) tak jednoznačné. Výsledky byly také oproti minulým sledováním, kdy docházelo ke kolísání a k výrazným poklesům teplot po injekci ryb, ovlivněny ideální teplotou vody na žlabech, což vedlo k vysokému procentu vytřených kontrolních ryb.

Celkem tedy došlo v průběhu experimentu k ovulaci u 118 ks jikernaček ze 145 připravených na výtěr (81,38 %), přičemž bylo získáno přibližně 230 000 ks jiker. Průměrná velikost jiker u náhodně vybrané skupiny samic byla  $2,5 \pm 0,16$  mm, jejich hmotnost  $10,4 \pm 0,76$  mg, průměrná relativní plodnost  $12\,852 \pm 3\,380$  ks.kg<sup>-1</sup> a průměrná absolutní plodnost  $2\,13 \pm 882,6$  ks jiker. Tyto zjištěné údaje byly v souladu s údaji Baruše *et al.* (1995) a Luska *et al.* (1987) běžně zjišťovanými v tocích ČR.

Na základě zjištěných výsledků bylo možno konstatovat, že pomocí použitých preparátů je možno u lipana podhorního soustředit dobu ovulace u většiny injikovaných jedinců do poměrně krátkého časového intervalu 2 – 4 dnů (2 – 3 výtěry s odstupem 2 dnů – tzn. 0. den - 1. výtěr, 2. den - 2. výtěr, případně 4. den - 3. výtěr nebo 2 výtěry s odstupem 3 dnů – tzn. 0. den - 1. výtěr, 3. den - 2. výtěr), přičemž samozřejmě délka období od injekce do začátku ovulace záleží především na teplotě vody a dále na použitém preparátu. Vyšší účinnost byla pozorována u kapří hypofýzy.

Po provedení umělých výtěrů byly ryby umístěny zpět do rybníčního prostředí. V průběhu několika měsíců následujících po umělých výtěrech bylo v rybníce, do kterého byly generační ryby vysazeny, pozorováno jejich postupné hynutí. Při podzimním výlovu této nádrže bylo zjištěno, že došlo téměř k totálnímu úhynu generačních ryb. V případě semiontních ryb, které se v nádrži také vyskytovaly, nebyly významné ztráty zjištěny.

skupinách ošetřených hormonálními přípravky došlo k ovulaci u největšího počtu samic v průběhu prvních třech výtěrů (2. – 6. den), přičemž rozdíly v počtu ovulujících ryb byly mezi těmito skupinami minimální. Nejvíce samic ošetřených Kobarelinem ovulovalo druhý den, hypofýzou pak šestý den.

Celkem v průběhu žlabového experimentu došlo k ovulaci ve skupině I. u 82,4 % samic, ve skupině II. u 85 % samic, ve skupině III. u 100 % samic a ve skupině č. IV. u 95,5 % samic. Projevil se opět vliv použitých preparátů na určitém zvýšení počtu ovulujících ryb. Zjištěná průměrná relativní plodnost  $8\,287 \text{ ks.kg}^{-1}$  byla oproti výsledkům z roku 2000 nižší, což mohlo být způsobeno skutečností, že většina samic absolvovala teprve první výtěr. Výrazně nižší počty jiker u samic při prvním výtěru prokázali také Bastl (1962) a Kupka (1968). Průměrná absolutní plodnost se pohybovala kolem  $1\,096 \pm 334 \text{ ks}$ , velikost jiker byla  $2,8 \pm 0,25 \text{ mm}$  a jejich hmotnost  $11,3 \pm 2,99 \text{ mg}$ . Zjištěné reprodukční ukazatele byly v souladu s údaji Baruše *et al.* (1995) a Luska *et al.* (1987) běžně zjišťovanými v tocích ČR.

Ryby po výtěru byly vysazovány do zemního rybníčku, kde byla sledována bezprostřední povýtěrová mortalita generačních ryb. Do 17.5. 2001 došlo k úhynu 1 ks ryby pocházející ze skupiny I. (bez injekce), 1 ks ze skupiny II. (fyziologický roztok), 2 ks injikovaných hypofýzou (sk. III.) a 2 ks injikovaných Kobarelinem (sk. IV). Dne 17.5. 2001 byly zbylé ryby vysazeny do 1 ha průtočného rybníka. Celkem bylo vysazeno 22 ks označených samic z kontrolní skupiny bez injekce, 19 ks s injekcí fyziologického roztoku, 20 ks ošetřených hypofýzou a 19 ks ošetřených Kobarelinem. Dále bylo vysazeno 35 ks samců a jako kontrolní skupina ryb pro alespoň částečné odlišení ztrát způsobených predátory (vydra) bylo vysazeno 150 ks násady síha severního marény (*Coregonus lavaretus maraena*).

Celková povýtěrová mortalita byla zjišťována při výlovu tohoto rybníka, který se uskutečnil dne 13.10. 2001. Celkem bylo sloveno 14 kusů samic lipana podhorního. Podle identifikačních značek bylo zjištěno, že ze skupiny kontrolních ryb bez injekční aplikace přežily 4 ks (17,4 %), z kontrolní skupiny injikované fyziologickým roztokem 3 ks (15 %), ze skupiny injikované hypofýzou 3 ks (13,6 %) a ze skupiny injikované Kobarelinem 4 ks (18,2 %). Dále bylo sloveno 16 samců (45,7 %) a 135 ks síhů (90 %).

Přežití generačních samic do října 2001 bylo ve všech skupinách velice nízké. Vyšší procento přežití u samců je do určité míry zřejmě ovlivněno faktem, že část samců nemusela být k umělému výtěru vůbec použita. Dále bylo možno na základě zjištěného vysokého přežití násady síha severního marény konstatovat, že tlak predátorů na obsádku rybníka nebyl příliš vysoký a tedy že úhyny lipanů podhorních měly bezprostřední souvislost s umělým výtěrem. Na základě získaných výsledků lze předpokládat, že pravděpodobně nejvýznamnějším

faktorem vysoké povýtěrové mortality generačních lipanů podhorních je vlastní manipulace s nimi v průběhu výtěrového období. Nebyl prokázán rozdíl v přežití mezi jednotlivými skupinami generačních samic a tudíž ani vliv injekce hormonálních přípravků na jejich mortalitu v povýtěrovém období. Jelikož však došlo ve všech skupinách samic téměř k totálnímu úhynu, nemusel být vliv aplikace hormonálních přípravků na mortalitu generačních ryb odlišitelný. Na souvislost aplikace hormonálních přípravků a významně zvýšené povýtěrové mortality takto ošetřených generačních samic pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) poukázali Arabaci *et al.* (2004).

### 5.3.3 Hodnocení vlivu vybraných léčiv a způsobu jejich aplikace na povýtěrovou mortalitu generačních lipanů podhorních

Velikostní a reprodukční ukazatele jikernaček lipana podhorního, které byly zařazeny do experimentů v letech 2004 a 2005, jsou uvedeny v tabulce 8. Při vlastním umělém výtěru se jako velice vhodné ukázalo použití anestetika pro anestezii samic. Významně se tak zabránilo poškození ryb při umělém výtěru a v důsledku uvolnění svalstva se významně zvýšilo procento ovulujících samic (přibližně o 1/3). Zjištěné reprodukční parametry byly v souladu s obdobnými údaji zjišťovanými u jiných populací lipana pohorního (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995).

**Tab. 8: Průměrné velikostní a reprodukční parametry skupin samic lipana podhorního, které byly sledovány v rámci experimentů v letech 2004 a 2005**

skupina	rok	n (ks)	SL (mm) $\bar{x} \pm SD$	TL (mm) $\bar{x} \pm SD$	m (g) $\bar{x} \pm SD$	průměr jikry (mm) $\bar{x} \pm SD$	hmotnost jikry (mg) $\bar{x} \pm SD$	RP (ks.kg <sup>-1</sup> ) $\bar{x} \pm SD$	AP (ks) $\bar{x} \pm SD$
I	2004	20	247±24,9	285±27,1	203±53,2	2,5±0,18	12,3±2,43	9073±3792	1789±779
II	2004	20	249±28,3	290±32,1	212±75,1	2,50±0,19	12,0±2,78	10821±5689	2155±1104
III	2005	24	229±25,0	265±28,8	180±53,7	2,71±0,16	14,8±1,20	8678±2711	1617±870
IV	2005	20	223±13,4	260±13,5	155±24,8	nestanoveno	nestanoveno	nestanoveno	nestanoveno
V	2005	21	230±18,1	264±22,1	180±41,5	2,65±0,18	14,4±2,2	8936±3051	1661±799
VI	2005	22	235±21,3	273±25,6	195±64,0	2,68±0,23	14,5±2,4	7396±3072	1412±718

Pozn. RP – relativní plodnost; AP – absolutní plodnost

I kontrolní skupina (2004) ryby byly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

II ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intramuskulární aplikace antibiotika (2004)

III kontrolní skupina (2005); ryby byly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

IV kontrolní skupina (2005); ryby nebyly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

V ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intraperitoneální aplikace antibiotika (2005)

VI ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intramuskulární aplikace antibiotika (2005)



**Tab. 9: Porovnání průměrných velikostních parametrů samic lipana podhorního vysazených v jarním a opět odlovených v podzimním období (totožní jedinci v rámci 1 roku)**

skupina	rok	období	n (ks)	SL (mm) x ± SD	TL (mm) x ± SD	m (g) x ± SD
I	2004	jaro	11	231±21,1	268±24,6	172±49,4
I	2004	podzim	11	240±24,4	279±26,9	201±73,5
II	2004	jaro	13	257±22,9	298±25,6	227±75,7
II	2004	podzim	13	260±20,4	302±23,2	213±49,8
III	2005	jaro	5	228±9,3	263±13,3	182±20,1
III	2005	podzim	5	236±12,0	276±12,0	186±46,1
IV	2005	jaro	5	228±11,2	264±9,7	140±31,4
IV	2005	podzim	5	236±10,2	278±12,1	178±27,9
V	2005	jaro	3	237±4,7	272±6,2	185±21,6
V	2005	podzim	3	255±14,7	297±17,0	220±52,1
VI	2005	jaro	6	238±21,9	277±26,7	228±81,6
VI	2005	podzim	6	244±20,3	288±21,3	227±50,6

skupina:

**I** kontrolní skupina (2004); ryby byly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

**II** ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intramuskulární aplikace antibiotika (2004)

**III** kontrolní skupina (2005); ryby byly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

**IV** kontrolní skupina (2005); ryby nebyly uměle vytřeny, nebyla aplikována antibiotika

**V** ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intraperitoneální aplikace antibiotika (2005)

**VI** ryby byly uměle vytřeny, byla provedena intramuskulární aplikace antibiotika (2005)

Délkové a hmotnostní parametry ryb byly ve většině případů vyšší na podzim. Pomocí dvouvýběrového t-testu však nebyly v případě parametrů SL a hmotnost u skupin sledovaných v roce 2004 (I, II) ani u skupin sledovaných v roce 2005 (III, VI) zjištěny statisticky významné rozdíly mezi jarním a podzimním měřením. Je nutno zdůraznit, že v jarním období byla hmotnost ryb ovlivněna nasazením jiker. Žádný z postupů praktikovaných při umělých výtěrech v letech 2004 a 2005 tedy nezpůsobil (oproti ostatním sledovaným skupinám) statisticky významnou inhibici růstu generačních ryb.

Při umělém výtěru v roce 2005 byly zjišťovány reprodukční parametry i u jedinců zařazených do experimentu v roce 2004. Cílem bylo posoudit, zda způsob provedení umělého výtěru může ovlivňovat reprodukční parametry v následující sezóně. Bohužel z opětovně na

podzim 2004 odlovených 11 respektive 13 kusů samic se podařilo uměle vytřířit pouze 3 respektive 4 kusy. Část ryb byla, zřejmě v důsledku působení rybožravých predátorů, ztracena v zimním období v rybníku, několik kusů se nepodařilo vytřířit. Porovnání je tedy z důvodu malého počtu kusů pouze orientační. Průměrné hodnoty velikostních a reprodukčních parametrů těchto ryb v letech 2004 a 2005 jsou uvedeny v tab. 10.

**Tab. 10: Porovnání průměrných velikostních a reprodukčních parametrů samic lipana podhorního, které byly úspěšně uměle vytírány v roce 2004 i 2005 (totožní jedinci)**

skupina	rok	n (ks)	SL (mm) $\bar{x} \pm SD$	TL (mm) $\bar{x} \pm SD$	m (g) $\bar{x} \pm SD$	průměr jikry (mm) $\bar{x} \pm SD$	hmotnost jikry (mg) $\bar{x} \pm SD$	RP (ks.kg <sup>-1</sup> ) $\bar{x} \pm SD$	AP (ks) $\bar{x} \pm SD$
I	2004	3	225±18,7	262±24,6	163±49,9	2,4±0,10	11,1±1,42	12967±3681	2024±657
I	2005	3	240±8,2	277±12,5	218±26,6	2,8±0,10	15,5±0,95	9622±783	2099±288
II	2004	4	245±14,5	285±14,6	185±32,6	2,6±0,12	13,3±2,54	9338±2800	1749±582
II	2005	4	258±8,3	299±8,9	234±23,6	2,9±0,12	17,1±2,76	5667±1338	1326±355

RP – relativní plodnost

AP – absolutní plodnost

Z uvedených hodnot je zřejmé, že v obou skupinách došlo za dobu 1 roku ke zvýšení délky a hmotnosti ryb, nicméně nárůst velikosti ryb v obou skupinách nebyl statisticky významný. Průměrná velikost přírůstků SL, TL a hmotnosti byla u obou skupin prakticky stejná. Dále v obou skupinách došlo ke statisticky významnému ( $P < 0,05$ ) zvětšení velikosti jiker (průměr i hmotnost) a k významnému snížení relativní plodnosti ( $P < 0,05$ ). Velikosti změn těchto parametrů byly v obou skupinách také velice podobné. Poněkud překvapivá byla stagnace absolutní plodnosti ve skupině I a dokonce snížení úrovně tohoto parametru ve skupině II. Obecně platí, že s rostoucí velikostí samic roste i jejich absolutní plodnost (Lusk *et al.*, 1987). Co se týče rostoucí velikosti jiker v závislosti na velikosti samic, jsou zjištěné údaje ve shodě s údaji zjišťovanými u lipana podhorního, pstruha obecného i dalších lososovitých ryb (Lusk *et al.*, 1987; Baruš *et al.*, 1995; Pekárková, 1956a; Lusk, 1968a, 1968b; Bagenal, 1969; Taube, 1976; Garcia *et Brana*, 1988; L'Abee-Lund *et Hindar*, 1990; *atd.*). Pokles relativní plodnosti s rostoucí velikostí ryb je poněkud v rozporu se zjištěními Luska *et Skácela* (1978), kteří na základě výzkumu populací lipana v povodí Svratky konstatují, že s rostoucí velikostí samic roste i jejich relativní plodnost. Zjištěné výsledky u několika zástupců populace z řeky Blanice jsou spíše v souladu s údaji týkajícími se pstruha

obecného, u kterého bylo opakovaně prokázáno, že s rostoucí velikostí samic jejich relativní plodnost klesá (Garcia *et* Brana, 1988; Lobon-Cervia *et al.*, 1997).

V průběhu dosavadních sledování bylo zjištěno, že povýtěrovou mortalitu uměle vytíraných generačních lipanů podhorních lze přijetím různých opatření významně snížit. Použitím anestetik při umělém výtěru prakticky nedocházelo ke ztrátám ani k výraznějšímu poškození generačních ryb, které je považováno za hlavní příčinu jejich povýtěrové mortality. V důsledku uvolnění svalstva vyvolaného vlivem anestetika se významně zvýšilo procento ovulujících samic, což znamenalo, že nemusela být prováděna pro ryby stresující hormonální stimulace. Na významném snížení povýtěrových ztrát generačních ryb se zřejmě podílela také skutečnost, že tyto ryby byly odlovovány již v podzimním období a ne v období před výtěrem, kdy jsou lipani vysoce náchylní k poškození a jejich následná povýtěrová mortalita po vypuštění zpět do toku mnohdy dosahuje až 100 % (Harsányi *et* Aschenbrenner, 2002). Zásadní vliv na přežití generačních lipanů podhorních má jejich vypuštění (co nejdříve po provedení umělého výtěru) do maximálně vhodných podmínek (přírodní tok). Intramuskulární aplikace léčiv se jeví z hlediska dalšího snižování povýtěrové mortality jako perspektivní.

#### **5.4 POSOUZENÍ VLIVU PODMÍNEK UMĚLÉHO CHOVU GENERAČNÍCH RYB NA KVALITU POHLAVNÍCH PRODUKTŮ, PLŮDKU A ADAPTABILITU POTOMSTVA TĚCHTO RYB V PROSTŘEDÍ VOLNÝCH VOD**

##### **5.4.1 Porovnání reprodukčních parametrů uměle odchovaných generačních pstruhů obecných s parametry původní volně žijící populace; hodnocení kvality jiker**

Ve všech sledovaných letech dozrávaly chované i divoké generační ryby ve stejném období. V průběhu dvou umělých výtěrů, které probíhaly s odstupem dvou týdnů bylo každoročně (2002 – 2004) v období mezi 30.10. a 15.11. vytřeno více než 90 % generačních samic obou skupin ryb.

Uměle odchovávané generační ryby tedy pohlavně dospívaly ve věku 2 – 4 let, přičemž většina ryb pohlavně dospěla ve 3. roce. K obdobným závěrům dospěli i Estay *et al.* (2004) v podmínkách chilské akvakultury. Věk, ve kterém uměle chované generační ryby dosahovaly pohlavní dospělosti se neodlišoval od přírodních podmínek (Taube 1976; Lusk 1968a). Výtěr uměle chovaných ryb každoročně probíhal v listopadu, což je obvyklé období v podmínkách odpovídajících této zeměpisné šířce na severní polokouli (Pender *et* Kwak

2002). Období výtěru bylo u uměle chovaných ryb naprosto shodné s referenční volně žijící populací. Stejně byly i teplotní podmínky, ve kterých se obě populace vyskytovaly.

Velikostní a reprodukční charakteristiky zjišťované při umělých výtěrech jsou uvedeny v tab. 11. V této tabulce jsou také pomocí indexů (a, b) znázorněny výsledky statistického porovnání sledovaných skupin. Mezi volně žijící a uměle odchovanou populací byl v roce 2003 a 2004 zjištěn statisticky významný rozdíl v délce těla a hmotnosti. Ve volně žijící populaci se již v těchto letech nepodařilo najít dostatek jedinců velikostně odpovídajících uměle chovaným rybám. Analýzou kovariance, která do určité míry eliminovala rozdílné velikosti jedinců v porovnávaných skupinách, nebyly v jednotlivých letech prokázány rozdíly u parametrů hmotnost jiker/samici, celková plodnost a relativní plodnost mezi divokou a uměle odchovanou populací ryb. Statisticky významně vyšší velikost (průměr) ( $P=0,001$ ) a vyšší hmotnost jikry ( $P=0,0375$ ) byly v roce 2002 zjištěny u volně žijící populace, oproti tomu v roce 2004 byla vyšší ( $P=0,0021$ ) průměrná hmotnost jikry zjištěna u uměle odchované populace.

Korelační závislosti mezi sledovanými parametry byly u obou populací podobné. Hmotnost jiker/samici ( $W_E$ ) a celková plodnost ( $T_F$ ) byly v případě uměle odchovaných ryb mírně více závislé na výtěrové hmotnosti ( $SW$ ) než na délce těla ( $SL$ ) ( $W_E:SW$   $r = 0,9556$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0,0001$  a  $W_E:SL$   $r = 0,9291$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0,0001$ ;  $T_F:SW$   $r = 0,9440$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0,0001$  a  $T_F:SL$   $r = 0,8962$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0,0001$ ), v případě divoké populace tomu bylo naopak ( $W_E:SW$   $r = 0,7736$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0,0001$  a  $W_E:SL$   $r = 0,8012$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0,0001$ ;  $T_F:SW$   $r = 0,5067$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0,0001$  and  $T_F:SL$   $r = 0,5586$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0,0001$ ). Oproti tomu velikost jiker (průměr, hmotnost) a relativní plodnost byly v případě uměle chované populace více závislé na standardní délce u uměle odchované populace a na výtěrové hmotnosti u volně žijící populace (obr. 15).

Hodnoty absolutní plodnosti a relativní plodnosti zjišťované v jednotlivých letech u sledovaných skupin samic volně žijících a chovaných pstruhů obecných byly v souladu s běžně zjišťovanými hodnotami těchto parametrů u tohoto druhu (Garcia *et* Brana, 1988; Lusk, 1968b). Byly prokázány silné závislosti hmotnosti snůšky jiker a absolutní plodnosti na délce těla ( $SL$ ) a hmotnosti ryb před výtěrem, přičemž vyšší závislosti byly u chovaných ryb zjištěny v případě hmotnosti, u volně žijících ryb naopak v případě délky těla ( $SL$ ). Významnější závislosti byly zjišťovány u chovaných ryb. U ostatních sledovaných parametrů (průměr jikry, hmotnost jikry, relativní plodnost) byly také prokázány závislosti na velikostních parametrech generačních ryb, ale zjištěné závislosti již nebyly tak jednoznačné jako v předchozích případech (obr. 15). Obecně lze říci, že u těchto parametrů byly u

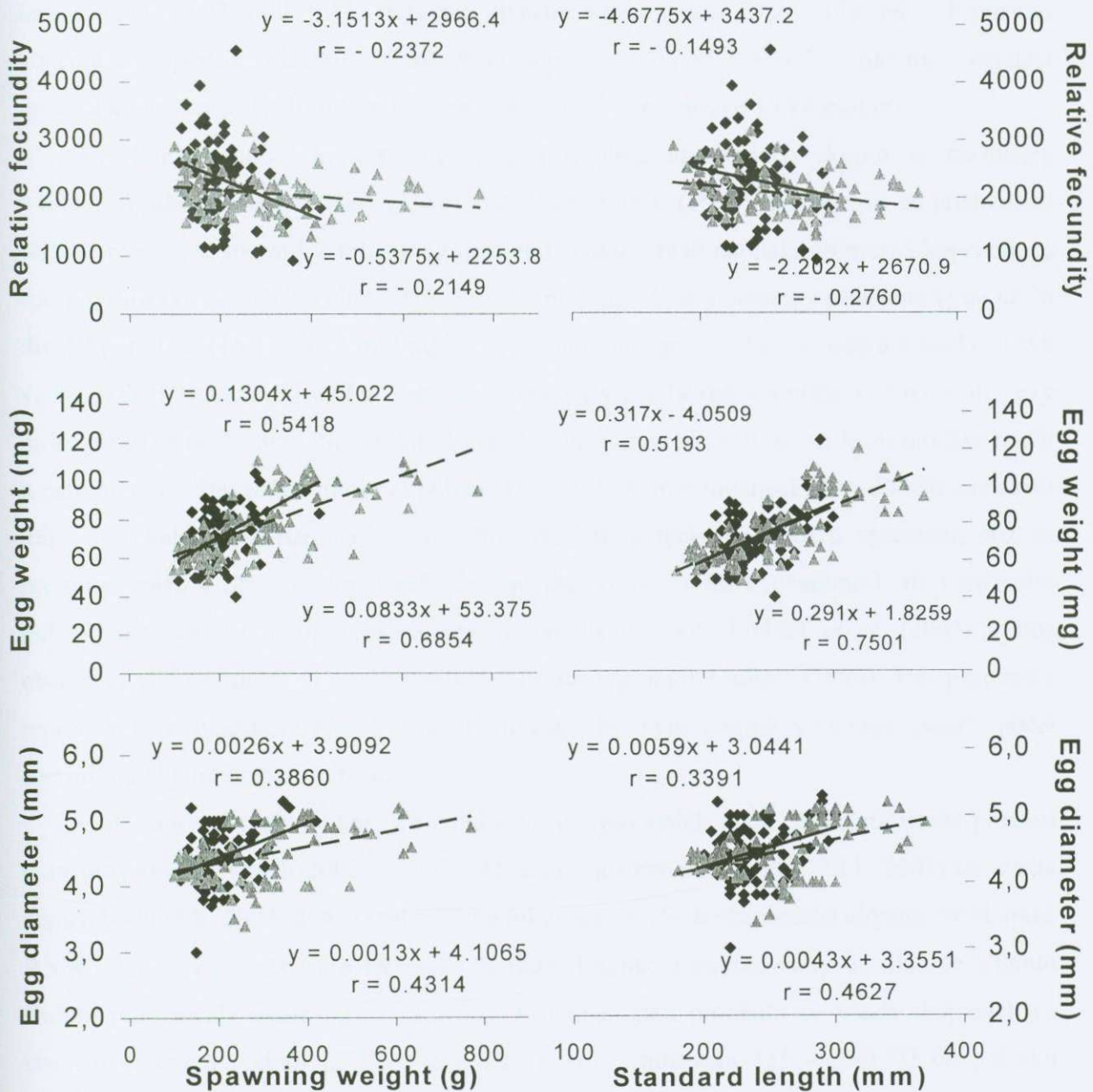
chovaných ryb zjišťovány vyšší závislosti v případě délky těla (SL), v případě parametru hmotnost ryb před výtěrem byly hodnoty korelačního koeficientu u obou populací podobné. Prokázané závislosti reprodukčních parametrů na velikosti samic byly v souladu s výsledky mnoha dalších autorů (např. McFadden *et al.*, 1965; Bagenal, 1969; L'Abée-Lund *et Hinder*, 1990; Ojanguren *et al.*, 1996; Lobon-Cervia *et al.*, 1997). Z důvodu zjištěných významných závislostí plodnostních parametrů na velikosti generačních ryb a rozdílnosti velikostí chovaných a volně žijících ryb byly mezi těmito skupinami porovnávané parametry statisticky korigovány na stejnou úroveň délky těla (SL). Mezi korigovanými hodnotami absolutní plodnost, relativní plodnost, průměr jikry, hmotnost jikry získanými v rámci skupin chovaných a volně žijících ryb byly prokázány v jednotlivých letech statisticky významné rozdíly pouze v několika případech a to u parametrů charakterizujících velikost jiker (tab. 11). Na základě zjištěných skutečností je možno konstatovat, že podmínky umělého chovu pstruha obecného významným způsobem neovlivnily sledované reprodukční ukazatele. Uměle chované ryby vykazovaly prakticky stejné reprodukční cykly jako ryby divoké. K podobným závěrům dospěl i Jarrams (1979), který se zabýval reprodukcí uměle chovaných generačních lososů (*Salmo salar* L.) a mořských pstruhů (*Salmo trutta* L.) a hodnocením kvality jejich potomstva. Na rozdíl od zjištění tohoto autora nebyla prokázána nižší oplozenost u jiker pocházejících od chovaných ryb. Oplozenost jiker pocházejících z těchto ryb byla v našem případě dokonce vyšší v porovnání s jikrami volně žijících ryb.

**Tab. 11: Velikostní a reprodukční parametry experimentálních skupin volně žijících (divokých) a chovaných samic pstruha obecného**  
**uváděné jako průměr ± SD (v případě ANOVY a v horních řádcích) a korigovaný průměr ± SE (v případě ANCOVY)**

<b>Rok</b>		2002		2003		2004	
<b>Populace</b>		divoká	chovaná	divoká	chovaná	divoká	chovaná
Věk (roky)		3	3	4-5	4	4-5	5
Počet analyz. jedinců (ks)		24	30	33	31	30	30
Délka těla (SL) (mm)	ANOVA	222,3 <sup>a</sup> ± 15,6	213,6 <sup>a</sup> ± 18,8	245,3 <sup>a</sup> ± 25,0	261,4 <sup>b</sup> ± 16,7	247,0 <sup>a</sup> ± 21,8	308,2 <sup>b</sup> ± 27,6
Hmotnost před výtěrem (g)	ANOVA	167,5 <sup>a</sup> ± 31,4	155,8 <sup>a</sup> ± 39,6	229,8 <sup>a</sup> ± 73,7	291,3 <sup>b</sup> ± 66,9	214,2 <sup>a</sup> ± 50,1	432,7 <sup>b</sup> ± 123,2
Hmotnost jiker (g/samice)	mean ± S.D.	23,9 ± 7,9	21,6 ± 5,5	33,4 ± 13,5	42,5 ± 10,3	40,2 ± 11,7	84,5 ± 29,3
	ANCOVA	22,6 <sup>a</sup> ± 0,99	22,1 <sup>a</sup> ± 0,88	36,7 <sup>a</sup> ± 1,29	39,4 <sup>a</sup> ± 1,26	62,3 <sup>a</sup> ± 3,22	62,4 <sup>a</sup> ± 3,22
Absolutní plodnost (ks jiker/samice)	mean ± S.D.	350 ± 117	342 ± 80	493 ± 189	606 ± 178	534 ± 159	862 ± 303
	ANCOVA	333 <sup>a</sup> ± 16,7	350 <sup>a</sup> ± 14,9	528 <sup>a</sup> ± 28,8	571 <sup>a</sup> ± 28,2	747 <sup>a</sup> ± 41,7	649 <sup>a</sup> ± 41,7
Průměr jikry (mm)	mean ± S.D.	4,57 ± 0,28	4,34 ± 0,16	4,20 ± 0,50	4,20 ± 0,43	4,60 ± 0,30	4,89 ± 0,18
	ANCOVA	4,57 <sup>b</sup> ± 0,05	4,34 <sup>a</sup> ± 0,04	4,29 <sup>a</sup> ± 0,09	4,16 <sup>a</sup> ± 0,09	4,64 <sup>a</sup> ± 0,06	4,82 <sup>a</sup> ± 0,06
Hmotnost jikry (mg)	mean ± S.D.	69 ± 10,8	63 ± 6,5	69 ± 18,0	72 ± 9,0	77 ± 13,0	99 ± 8,0
	ANCOVA	68,6 <sup>b</sup> ± 1,78	63,4 <sup>a</sup> ± 1,58	71,0 <sup>a</sup> ± 2,52	69,8 <sup>a</sup> ± 2,48	80,7 <sup>a</sup> ± 2,55	94,7 <sup>b</sup> ± 2,55
Relativní plodnost (ks jiker/kg hmotnosti samice)	mean ± S.D.	2099 ± 536,0	2237 ± 410,3	2219 ± 782,4	2095 ± 330,4	2583 ± 832,8	1979 ± 303,0
	ANCOVA	2127 <sup>a</sup> ± 95,8	2194 <sup>a</sup> ± 85,3	2184 <sup>a</sup> ± 113,0	2129 <sup>a</sup> ± 111,0	2427 <sup>a</sup> ± 151,0	2135 <sup>a</sup> ± 151,0

a,b – hodnoty se stejným indexem (v rámci roku) se statisticky významně neliší (P<0,05)

Obr. 15: Porovnání závislostí mezi hmotností samic před výtěrem (spawning weight) a průměrem jikry (egg size), hmotností jikry (egg weight), relativní plodností (relative fecundity) a mezi délkou těla samic (standard length) a průměrem jikry, hmotností jikry, relativní plodností u divokých ( ) a chovaných ( ) populací pstruha obecného. V horních částech grafů jsou uvedeny závislosti zjištěné u divokých ryb, v dolní části pak závislosti zjištěné u chovaných ryb.



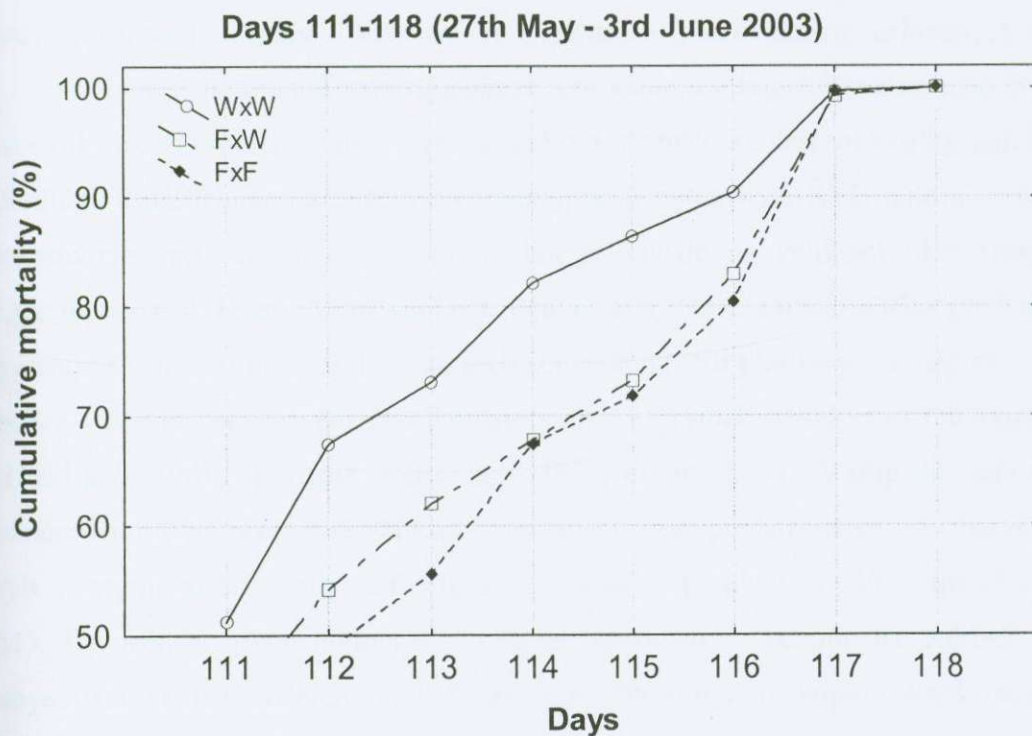
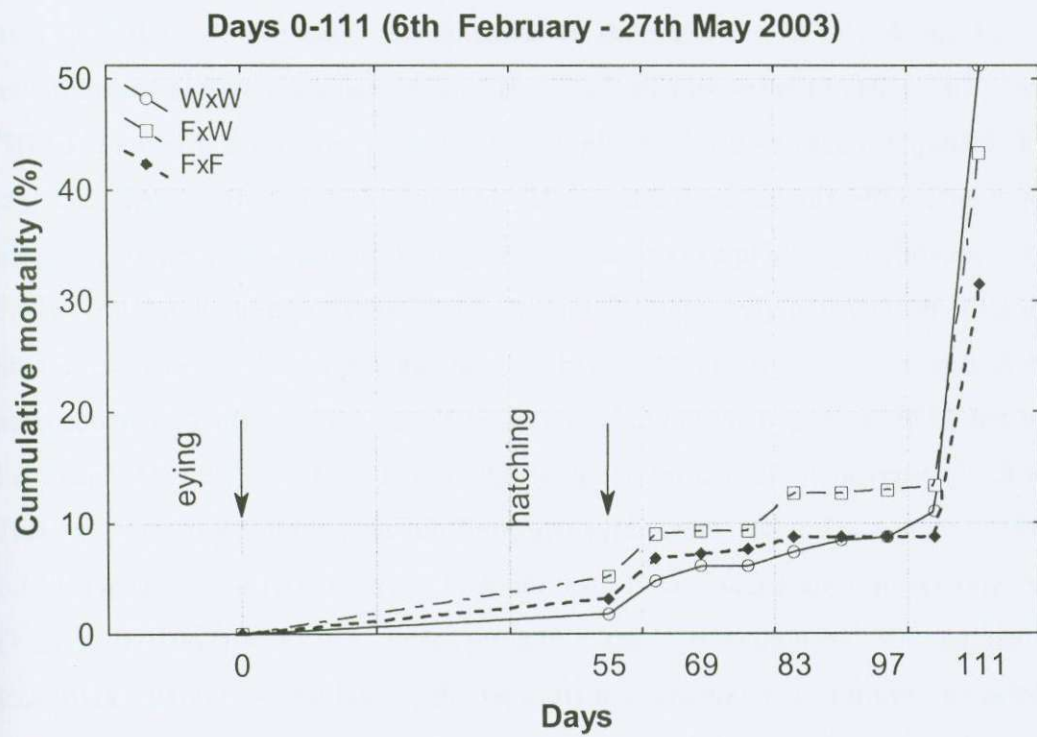
Samci byli hodnoceni jen v roce 2002 (v tomto roce byli samci vyřazeni z dalšího chovu). V každé skupině bylo hodnoceno 10 ryb. Průměrná délka těla (SL) uměle odchovaných mlíčáků byla  $218 \pm 13,6$  mm a jejich průměrná hmotnost  $172 \pm 25,1$  g. Průměrná SL volně žijících mlíčáků byla  $237 \pm 11,3$  mm a průměrná hmotnost  $212 \pm 34,7$  g. Průměrná koncentrace spermií mlíčáků z umělého chovu byla  $18,9 \pm 2,47$  mld ml<sup>-1</sup>, nejnižší zjištěná koncentrace 17,03 mld ml<sup>-1</sup>, nejvyšší zjištěná koncentrace 23,28 mld ml<sup>-1</sup>. Průměrná koncentrace spermií mlíčáků z volně žijící populace byla  $15,1 \pm 3,22$  mld ml<sup>-1</sup>, nejnižší zjištěná koncentrace 10,16 mld ml<sup>-1</sup>, nejvyšší zjištěná koncentrace 19,84 mld ml<sup>-1</sup>.

Zjištěné hodnoty koncentrace spermií u obou testovaných skupin se nacházely v rozmezí, jaká uvádějí Linhart (1984) a Pool *et* Dillane (1998). Nepotvrdil se předpoklad nižší koncentrace spermií u mlíčáků z umělého chovu, právě naopak, průměrná koncentrace spermií mlíčáků z umělého chovu ( $18,9 \pm 2,47$  mld ml<sup>-1</sup>) byla statisticky průkazně vyšší než u divoké populace ( $15,1 \pm 3,22$  mld ml<sup>-1</sup>). Vysvětlení můžeme hledat i v rozdílné velikosti ryb ve skupinách. Standardní délky i hmotnosti ryb byly u mlíčáků z umělého chovu statisticky průkazně nižší ( $P < 0,05$ ). Negativní závislost koncentrace spermií na velikosti mlíčáka uvádí u pstruha obecného právě Poole *et* Dillane (1998). Jedním z možných důvodů této závislosti může být velikost a naplnění močového měchýře a technika odběru spermatu, což se promítne nejen v různém stupni naředení spermatu močí (nižší koncentrací), ale i snížením pohyblivosti spermií a oplozenischnosti, jak uvádí např. Linhart *et al.* (2003) u lína obecného (*Tinca tinca*) či sumce velkého (*Silurus glanis*) Linhart (1996). Pro porovnání reprodukčních ukazatelů různě velkých mlíčáků by bylo zřejmě vhodnější použít počet spermií na 1kg hmotnosti mlíčáka.

Hodnocení kvality jiker (z hlediska obsahu zásobních látek pro raná stadia plůdku) bylo provedeno v letech 2002 – 2003. Od nasazení jiker na aparáty (2.11. 2002) do stadia očních bodů (5.2. 2003; 284 °D od začátku inkubace ve všech skupinách) uhynulo ve skupině WxW 4,5 %, FxW 0,6 % a FxF 2,2 % jiker. Průměrná teplota vody na líhni se v tomto období pohybovala okolo  $3,0 \pm 1,5$  °C. Kulení plůdku proběhlo ve všech skupinách ve stejném časovém období (27.3. – 2.4. 2003), tzn. v intervalu 355 – 380 °D od počátku inkubace. Inkubace jiker byla ukončena (100 % vykulených ryb) ve všech skupinách dne 2.4. 2003. Od stadia očních bodů do ukončení kulení uhynulo ve skupině WxW 1,8 %, FxW 5,2 % a FxF 3,2 % jiker a čerstvě vykulených larválních stadií. Další průběh mortality hladovějícího plůdku v jednotlivých skupinách je znázorněn na obr. 16.



Obr. 16: Kumulativní mortalita jiker a hladovějícího plůdku pstruha obecného v testovaných skupinách. WxW – jikry divokých samic oplozené spermatem divokých samců; FxW - jikry chovaných samic oplozené spermatem divokých samců; FxF - jikry chovaných samic oplozené spermatem chovaných samců.



Průběh mortality hladovějícího plůdku probíhal ve všech skupinách podobně do 110. dne od začátku experimentu (od stadia očních bodů) respektive do 55. dne (450 °D) od vykulení. Mezi 110. – 112. dnem experimentu (55. (450 °D) - 57. (466 °D) od vykulení) došlo k významnému zvýšení úhynů ve všech skupinách, přičemž významně vyšší mortalita byla zpočátku tohoto období zaznamenána ve skupině (W x W). U skupin FxF a FxW bylo nejintenzivnější hynutí zaznamenáno 116. – 117. den experimentu (61. – 62. den (530 – 543 °D) od vykulení). K úhynům posledních kusů plůdku došlo ve všech skupinách dne 3.6. 2003, tzn. 118. den experimentu (63. den (558 °D) od ukončení kulení). Průměrná teplota vody na líhni se v období od vykulení do úhynu posledních kusů plůdku pohybovala v rozmezí  $8,9 \pm 3,6$  °C. Pomocí Kolmogorov-Smirnovova testu (KS test) byly porovnávány distribuční funkce úhynů testovaných skupin plůdku. Jako  $H_0$  byla testována hypotéza, že se distribuční funkce mezi sebou neliší (např.  $H_0: F_{W \times W} = F_{F \times F}$ ), alternativní byla hypotéza, že se distribuční funkce liší (např.  $H_A: F_{W \times W} \neq F_{F \times F}$ ). Kritické hodnoty testu byly stanoveny dle Anděla (1993). Testové statistiky Kolmogorových-Smirnovových testů byly:  $D_{W \times W, F \times F} = 0,198$ ,  $D_{F \times W, F \times F} = 0,119$ ,  $D_{W \times W, F \times W} = 0,143$ . Kritická hodnota testů byla získána aproximací (viz Anděl, 1993),  $D_{300,300}^*(0,01667) = 0,1263$ . Počet případů v každé ze skupin byl 300, adjustovaná hladina testu byla 0,01667. Na základě výsledků statistické analýzy byly zamítnuty následující nulové hypotézy:  $H_0: F_{W \times W} = F_{F \times F}$ ;  $H_0: F_{W \times W} = F_{F \times W}$ . Průběh hynutí plůdku ve skupině W x W se tedy významně lišil (především v závěru experimentu) od ostatních sledovaných skupin.

Cílem experimentů zabývajících se testováním biologické kvality jiker bylo posoudit, zda v důsledku umělého chovu generačních ryb nedošlo ke snížení kvality jejich pohlavních produktů a následnému zhoršení životaschopnosti potomstva. Řada autorů u různých druhů lososovitých ryb uvádí, že přežití plůdku je závislé na velikosti jiker (Bagenal, 1969; Ojanguren *et al.*, 1996). Také velikost plůdku, která úzce souvisí s jeho přežitím, pozitivně koreluje s velikostí jiker. Bylo však prokázáno, že přežití plůdku je závislé na velikosti jiker pouze v období vstřebávání žloutkového váčku a prvních několika týdnů exogenní výživy (Hutchings, 1991; Springate *et Bromage*, 1985; Einum, 2003). V případě námi prováděného experimentu byla průměrná velikost testovaných jiker pocházejících od tříletých chovaných ryb (F) mírně nižší v porovnání s jikrami velikostně podobných volně žijících ryb (W) (tab. 11). Oplozenost jiker hodnocená v rámci testovaných skupin na základě počtu jiker uhynulých do stadia očních bodů (Estay *et al.*, 2004) byla u skupiny WxW překvapivě nižší (95,5 %) v porovnání se skupinami FxW (99,4 %) a FxF (97,8 %). Délka inkubace jiker pocházejících od volně žijících i chovaných samic byla prakticky shodná. Průměrná hmotnost vykuleného plůdku volně žijících samic (WxW)  $67,0 \pm 7,08$  mg byla mírně vyšší ( $P < 0,05$ )

v porovnání s průměrnými hmotnostmi plůdku uměle chovaných samic (FxW  $63,6 \pm 5,24$  mg respektive FxF  $63,3 \pm 5,36$  mg). Tato skutečnost byla pravděpodobně způsobena větší velikostí jiker divokých ryb. Průběh mortality plůdku byl ve všech testovaných skupinách velmi podobný. Počty uhynulých kusů v jednotlivých skupinách se v prvních 55 dnech (450 °D) od vykulení pohybovaly na úrovni několika jedinců týdně. 110. den experimentu (55 dnů od vykulení) došlo k prudkému zvýšení počtu uhynulých jedinců ve všech skupinách, přičemž jejich počet se v každé skupině pohyboval na úrovni několika desítek kusů. Právě v tomto období pravděpodobně došlo k vyčerpání zásobních látek pocházejících z jiker. Přestože statistickou analýzou průběhu kumulativní mortality byl prokázán její mírně odlišný průběh u skupiny WxW v porovnání s ostatními testovanými skupinami, rozdíly mezi potomstvy chovaných a volně žijících ryb byly minimální. Tuto skutečnost potvrzuje také fakt, že k úhynům posledních jedinců došlo ve všech skupinách ve stejný den (63. den (558 °D) od vykulení).

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že podmínky umělého chovu významně neovlivnily většinu sledovaných reprodukčních parametrů, biologickou kvalitu jiker a životaschopnost plůdku chovaných generačních pstruhů obecných. Uměle chované ryby vykazovaly obdobné reprodukční cykly jako referenční ryby volně žijící.

#### **5.4.2 Vývoj pstruha obecného po vylíhnutí – srovnávací analýza vlivu rodičů z přirozeného a umělého prostředí**

K vylíhnutí embryí došlo u všech tří sledovaných skupin inkubovaných jiker (A, B, C) na konci 9., event. až na začátku 10. embryonální etapy vývoje (E9-10), na konci března až začátkem dubna 2003. Stupeň morfogeneze byl obdobný jak uvádí Pavlov (1989). V době odběru vzorků a zahájení experimentu dne 1.4.2003 byla průměrná celková délka (TL) a hmotnost (w) čerstvě vylíhnutých volných embryí 15,6 – 16,1 mm a 63,3 – 67,0 mg (vz. 1A – C, tab. 12). Průměrná teplota vody byla 4,8 °C a suma denních stupňů teploty vody (°D) od začátku inkubace 360 °D. Průměrná teplota vody (°C) byla v průběhu inkubace jiker v jednotlivých měsících následující: listopad 4,2; prosinec 2,5; leden 1,1; únor 1,3; březen 2,9. Mezi jednotlivými vzorky nebyly zjištěny významné rozdíly ve velikosti a stupni ontogeneze volných embryí. Ve skupině C byli zjištěni dva jedinci s poškozeným perforovaným kaudálním okrajem žloutkového vaku (6,7%). Stupeň vývoje byl určen podle Pavlova (1989) jako začátek 10. etapy. V tělní a ocasní části volných embryí bylo spočteno 33-35 a 21-24 segmentů. Ústní otvor se nacházel na ventrální straně hlavy. Ploutevní lem byl téměř nediferencovaný se základy dorzální a anální ploutve ve formě zhuštění

mezenchymu. V budoucí kaudální ploutvi byl zformován první lepidotrichia. Žloutkový váček byl velký s tukovou kapkou o průměru 1,7 mm. Průměrná délka (lsv), výška (asv) a šířka (lasv) žloutkového váčku byla u jednotlivých skupin 6,2-7,0 mm, 3,1-3,4 mm a 3,3-3,6 mm.

V době druhého odběru vzorků (2A-C) dne 14.4.2003 byl stav vývoje volných embryí klasifikován jako začátek 11. etapy. Průměrná TL a w zárodků ve skupinách A, B, C byla 18,4 mm, 76,8 mg; 18,1 mm, 73,6 mg; 18,2 mm, 65,6 mg. Žloutkový váček byl částečně redukován, ústa měla koncové postavení, začátek dorzální ploutve byl samostatně vyčleněn z ploutevního lemu, byl vytvořen základ tukové ploutvičky. Břišní ploutve přesahovaly přes okraj praeanálního ploutevního lemu. Tělní a ocasní segmenty měly tvar W. U jednoho jedince ve skupině B a jednoho jedince ve skupině C byl poškozen kaudální okraj žloutkového váčku.

U volných embryí ze dne 26.4.2003 (3A-C) byl stanoven stupeň ontogeneze jako 11. etapa. Zvětšené hodnoty délek a hmotností zárodků a zmenšené hodnoty velikosti žloutkového váčku jsou uvedeny v tab. 12 a 13. Výskyt potravy ve střevě nebyl zřetelný i když stáří volných embryí, event. larev již bylo 26 dní od vylíhnutí.

Zárodky ze dne 6.5.2003 (4A-C) byly zařazeny do 12. etapy, která podle Pavlova (1989) zahrnuje larvální a juvenilní periodu vývoje. Průměrné hodnoty TL a w ve skupinách A, B, C, byly 22,4 mm, 104,4 mg; 21,9 mm, 98,4 mg; 21,8 mm, 96,4 mg. Průměrné hodnoty FWC byly velmi nízké (0,9217; 0,9326; 0,9352). Velikost žloutkového váčku se snížila na minimum. Souběžně s endogenní výživou docházelo k příjmu vnější potravy. Vzorky byly složeny z larválních a juvenilních jedinců. Nepárový ploutevní lem byl úplně diferencován kromě nepatrného zbytku v praeanální části. U některých jedinců byly zjištěny základy šupin. Boční části žloutkového váčku byly překryty stěnou těla. Na bocích těla bylo vytvořeno 6-7 velkých melaninových pigmentových skvrn. Ve vzorku A byl u jednoho jedince zjištěn u základu prsní ploutve tkáňový novotvar o velikosti 1,6 x 1,6 mm.

Ve vzorcích 5A-C ze dne 21.5.2003 byly zjištěny významně menší hodnoty délky, hmotnosti a FWC u jedinců ze vzorku C (tab. 14). Průměrné hodnoty TL a w byly u vzorků A-C následující: 26,0 mm, 162,8 mg; 25,2 mm, 144,6 mg; 24,3 mm, 126,2 mg. Přítomnost embryolarválních znaků již nebyla zjištěna. Konec kaudální ploutve byl u větších jedinců vykrojený, což umožnilo změřit FL. Hodnoty FWC byly absolutně nejnižší u všech jedinců (A = 0,9109; B = 0,9141; C = 0,8851). Podle Pavlova (1989) se přechod do juvenilní periody vývoje uskutečnil při TL = 25 - 27 mm na začátku plného příjmu exogenní potravy. Podle našich výsledků byl juvenilní znak (existence šupin) zjištěn již u jedinců v minulém vzorku

(ze 6.5.) i když výskyt exogenní potravy nebyl zřetelný, zřejmě z důvodu obtížnějšího zahájení příjmu umělé potravy (granulí).

V závěru sledování, dne 3.6.2003 byly průměrné hodnoty TL a w významně nižší u vzorku 6C (6A = 27,8 mm, 203,2 mg; 6B = 27,7 mm, 210,3 mg; 6C = 25,5 mm, 150,5 mg). Hodnoty FWC byly již vyšší než v předchozím odběru, což dokumentuje skutečnost překonání kritického období. Všichni jedinci byli zařazeni do juvenilní periody vývoje. Pigmentové skvrny na bocích těla vytvářely 3 řady. V prostřední řadě byly skvrny velké a jejich tvar byl ledvinovitý. U většiny jedinců byl registrován velmi intenzivní příjem vnější potravy.

**Tab. 12: Celková délka (TL), hmotnost (w) a faktor hmotnostní kondice (FWC) u pstruha obecného v období raného vývoje po vylíhnutí, od 1. do 64. dne stáří (D1-64) u vzorků A-C.**

Dat.	Vz.	TL (mm)				w (mg)				FWC (TL)				n	D
		min.	max.	prům.	SD	min.	max.	prům.	SD	min.	max.	prům.	SD		
1.4.	1A	14	17	16,3	0,57	53	82	67	7,08	1,1798	2,2959	1,5432	0,2118	32	1
	1B	15	16,2	15,6	0,43	54	74	63,6	5,24	1,416	1,9259	1,6723	0,1143	30	
	1C	15	17,3	16,1	0,49	53	75	63,3	5,36	1,2939	1,8509	1,5307	0,1372	30	
14.4.	2A	17,6	19,2	18,4	0,63	65	88	76,8	8,7	1,1145	1,3244	1,2275	0,1009	5	14
	2B	17,2	19	18,1	0,64	67	83	73,6	6,62	1,1299	1,3364	1,2497	0,0843	5	
	2C	18	18,5	18,2	0,26	63	71	65,6	3,13	0,995	1,1214	1,0849	0,0529	5	
26.4.	3A	18,5	21,2	19,9	0,96	70	97	83,4	11,5	0,9125	1,125	1,0497	0,0867	5	26
	3B	18	20,2	19,1	1,01	48	80	67,2	12,64	0,823	1,0582	0,9498	0,0847	5	
	3C	19	20,1	19,6	0,57	71	78	75	2,74	0,925	1,0935	0,9953	0,0679	5	
6.5.	4A	20,5	24	22,4	0,77	73	135	104,4	12,89	0,7972	1,1096	0,9217	0,0764	30	36
	4B	20,5	23,1	21,9	0,78	82	112	98,4	8,88	0,7701	1,1125	0,9326	0,0674	30	
	4C	20	22,5	21,8	0,59	85	110	96,4	7,05	0,7983	1,1625	0,9352	0,0747	30	
21.5.	5A	24,2	28	26	1,52	123	215	162,8	34,27	0,8679	0,9794	0,9109	0,0464	5	51
	5B	24	26,5	25,2	0,91	113	195	144,6	33,53	0,6072	1,248	0,9141	0,2472	5	
	5C	23,5	25	24,3	0,57	113	141	126,2	10,47	0,7684	1,0865	0,8851	0,1318	5	
3.6.	6A	24	32	27,8	1,76	108	322	203,2	47,43	0,7344	1,0822	0,9284	0,0755	44	64
	6B	25,5	30,5	27,7	1,41	140	286	210,3	43,5	0,8114	1,1276	0,9722	0,0746	35	
	6C	23,5	28	25,5	1,16	101	236	150,5	28,62	0,7478	1,0751	0,9004	0,0804	47	

**Tab. 13: Délka hlavy (lc), maximální šířka žloutkového váčku – těla (la sv-c) a průměr ústního otvoru (ds) při maximálním otevření čelistí u pstruha obecného v období ranného vývoje po vylíhnutí, od 1. do 64. dne stáří (D1-64) u vzorků A-C.**

Dat.	Vz.	lc (mm)				la sv-c (mm)				ds (mm)				n	D
		min.	max.	prům.	SD	min.	max.	prům.	SD	min.	max.	prům.	SD		
1.4.	1A	2,2	3,4	3,05	0,21	3,1	3,9	3,6	0,21	0,79	1,06	0,89	0,07	32	1
	1B	2,8	3,4	3,08	0,15	3,4	3,9	3,6	0,17	0,73	0,92	0,79	0,05	30	
	1C	2,9	3,5	3,14	0,15	3	3,7	3,3	0,19	0,73	0,92	0,83	0,05	30	
14.4.	2A	3,6	4	3,84	0,22	3,2	3,5	3,3	0,13	0,92	0,99	0,95	0,04	5	14
	2B	3,6	4	3,76	0,15	3	3,4	3,2	0,18	0,99	1,12	1,07	0,06	5	
	2C	3,6	3,9	3,76	0,11	2,6	3	2,8	0,15	0,86	0,99	0,94	0,06	5	
26.4.	3A	4,1	4,7	4,38	0,24	2,8	3,3	3	0,21	1,06	1,25	1,16	0,09	5	26
	3B	4,1	4,7	4,44	0,23	2,3	2,9	2,7	0,23	0,92	1,19	1,06	0,12	5	
	3C	4,2	4,5	4,36	0,11	2,5	3	2,7	0,19	1,06	1,32	1,16	0,4	5	
6.5.	4A	4,9	5,9	5,49	0,22	2,1	3,2	2,6	0,22	0,99	1,58	1,4	0,12	30	36
	4B	4,9	5,8	5,4	0,22	2,3	2,9	2,5	0,14	1,12	1,45	1,32	0,08	30	
	4C	5	5,7	5,38	0,15	2,1	2,9	2,4	0,18	1,39	1,65	1,49	0,07	30	
21.5.	5A	6	7	6,52	0,36	2,8	3,1	2,9	0,13	1,58	1,91	1,7	0,13	5	51
	5B	5,9	6,6	6,18	0,27	2,6	3,7	3	0,48	1,52	1,78	1,65	0,12	5	
	5C	5,9	6,4	6,16	0,23	2,6	2,8	2,7	0,08	1,52	1,72	1,61	0,08	5	
3.6.	6A	6,1	7,8	6,94	0,41	2,3	3,7	3,1	0,32	1,58	2,24	1,88	0,16	44	64
	6B	6,3	7,6	6,95	0,35	2,6	4	3,2	0,33	1,65	2,11	1,85	0,12	35	
	6C	5,9	7,5	6,48	0,32	2,2	3,2	2,6	0,25	1,52	1,98	1,79	0,12	47	

**Tab. 14: Srovnání průměrných hodnot TL, w a FWC u jednotlivých vzorků pomocí Studentova t-testu. Vysvětlivky: P = míra pravděpodobnosti, \* P 0.05 (významný rozdíl), \*\*P 0.01 (velmi významný rozdíl), n = počet jedinců ve vzorku.**

Vzorky	n:n	P					
		TL	Sig.	w	Sig.	FWC	Sig.
1A:1B	32:30	4,4281E-07	**	0,03516593		0,00030935	**
1A:1C	32:30	0,04473109	*	0,02466542		0,98294027	
1B:1C	30:30	0,00033917	**	0,84611526		0,00011837	**
4A:4B	30:30	0,01441551	*	0,04064664	*	0,55842903	
4A:4C	30:30	0,00044433	**	0,00491827	**	0,48975148	
4B:4C	30:30	0,38468277		0,35441612		0,88734020	
6A:6B	44:35	0,88049547		0,47596323		0,01539014	*
6A:6C	44:47	2,3438E-10	**	1,8834E-08	**	0,09096520	
6B:6C	35:47	9,9659E-11	**	6,7218E-09	**	9,3569E-05	**

Z uvedeného ontogenetického přehledu je zřejmé, že charakteristika vyvíjejícího se potomstva pstruha obecného od rodičů z přirozeného i umělého prostředí byla velmi podobná do 6.5.2003 (36. den pokusu, vz. 4A - C), tj. v období endogenní výživy. V následných odběrech ve dnech 21.5. a 3.6.2003 (vz. 5 a 6) byla zjištěna postupně se zvyšující

diferenciace sledovaných parametrů, zejména jejich nižší hodnoty u jedinců ve vzorcích 5C a 6C. Jedná se o období smíšené endo-exogenní výživy a později pouze exogenní výživy. V řadě C bylo zjištěno také největší množství morfologických anomálií (2,46 %). V řadě A to bylo 0,83 % a v řadě B 0,91 %. Kombinace C (jikry od samic z umělého chovu oplozené mlíčem od samců z přirozeného prostředí) tedy vykazovala v rámci našich sledování mírně horší parametry v porovnání se skupinami A a B. Experiment je v budoucnu zapotřebí zopakovat a prodloužit dobu sledování do období vyššího věku do stáří šesti, dvanácti a dvaceti čtyř měsíců po vylíhnutí (tzv. půlroček, roček, dvouroček) a množství kritérií rozšířit o vybrané produkční a hematologické parametry.

#### **5.4.3 Hodnocení vlivu podmínek umělého chovu generačních ryb na genetickou variabilitu jejich potomstva - porovnání s původní populací**

U dvanácti porovnávaných populací pstruha obecného z oblasti Šumavy byla nalezena genetická variabilita celkem u produktů 17 proteinových lokusů z analyzovaných 35 (tab. 15). Hodnoty genetické variability (tab. 16) obou skupin (skupiny pocházející z přirozeného výtěru – Husinec wild a skupiny pocházející z umělého chovu – Husinec farm) patřily – ve srovnání s dalšími populacemi pstruha z oblasti Šumavy - k průměrným (1,3 a 1,4 alely na lokus; 25,7 % lokusů variabilních). Poměr heterozygotů byl v případě skupiny Husinec wild 0,113, v případě skupiny Husinec farm 0,104. Zajímavý byl zjištěný rozdíl mezi oběma soubory vzorků – v lokusech *AAT-1\**, *IDH-1\** a *LDH-1\** byla u druhé studované skupiny (potomstvo samic z umělého chovu) zjištěna proti očekávání větší variabilita. Tento jev však lze (vzhledem k nízké frekvenci výskytu variantní alely – v heterozygotním stavu u jednoho jedince) vysvětlit chybou způsobenou náhodným výběrem jedinců k analýze.

Genetická příbuznost populací Husinec wild a Husinec farm vyjádřená koeficienty genetické vzdálenosti či podobnosti (tab. 17) byla velmi vysoká (podobnost 0,996). Byla prokázána také vysoká podobnost skupin Husinec wild a Husinec farm s dalšími skupinami v minulosti (Šlechtová *et al.*, 2001) analyzovanými v povodí řeky Blanice (Blanice D 96, Blanice H 98, Zlatý p.). Fenogram znázorňující graficky genetické vztahy mezi studovanými populacemi (obr. 17) ukazuje vysokou genetickou příbuznost skupin Husinec wild, Husinec farm a také ostatních v minulosti sledovaných skupin v povodí Blanice.

Tab. 15: Genetická variabilita porovnávaných populací

Locus	Allele	Population											
		Žichovice	Borová Lada	Zabie oko	Žďárské j	Zlatý p 96	Blanice D 96	Světlá	Lenora 97	Blanice H 98	Žichovice 99	Husinec 04 wild	Husinec 04 farm
AAT-1	A	0.900	0.913	1	1	0.955	0.965	1	1	1	0.964	1	0.985
	B	0.100	0.065			0.045	0.035				0.024		0.015
	C		0.022								0.012		
AAT-4	A	0.417	0.478	1	0.523	0.636	0.442	0.608	0.543	0.525	0.475	0.569	0.500
	B	0.583	0.348		0.477	0.364	0.558	0.392	0.457	0.475	0.525	0.306	0.424
	C		0.174									0.125	0.076
CK-1	A	0.420	0.652	0.269	0.455	0.432	0.500	0.287	0.482	0.408	0.526	0.435	0.333
	B	0.580	0.348	0.731	0.545	0.568	0.500	0.712	0.518	0.592	0.474	0.565	0.667
FBP-1	A	0.595	0.848	0.923	0.932	0.750	0.829	0.797	0.797	0.762	0.486	0.700	0.727
	B	0.405	0.152	0.077	0.068	0.250	0.171	0.203	0.203	0.237	0.514	0.300	0.273
FH-1	A	0.500	0.630	1	0.423	0.614	0.563	0.525	0.541	0.725	0.671	0.694	0.734
	B	0.120	0.152		0.192	0.159	0.237	0.250	0.108	0.038		0.125	0.063
	C	0.380	0.217		0.385	0.227	0.200	0.225	0.351	0.237	0.329	0.181	0.203
IDH-1	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.985
	B												0.015
IDH-3	A	1	0.978	1	1	1	1	1	0.973	1	1	1	1
	B		0.022										
	C								0.027				
LDH-1	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.974
	B												
	C												0.026
LDH-5	A	1	0.674	0.077	1	0.977	0.947	1	0.986	0.988	1	1	1
	B		0.326	0.923		0.023	0.053		0.014	0.013			
MDH-2	A	0.960	0.761	0.654	0.795	0.727	0.849	0.959	0.932	0.875	0.917	0.917	0.891
	B	0.040	0.239	0.346	0.205	0.273	0.151	0.041	0.068	0.125	0.083	0.083	0.109
MDH-3	A	0.820	0.696	0.846	0.795	0.786	0.849	0.600	0.635	1	0.655	0.750	0.727
	B	0.180	0.304	0.154	0.205	0.214	0.151	0.400	0.351		0.286	0.250	0.273
	C										0.024		
	D										0.036		
	E								0.014				
MPI	A	0.159	0.739	1	0.850	0.591	0.563	0.324	0.653	0.650	0.476	0.708	0.576
	B	0.841	0.261		0.150	0.409	0.438	0.676	0.347	0.350	0.524	0.292	0.424
GPDH2	A	0.840	0.913	0.308	0.591	0.773	0.744	0.863	0.743	0.613	0.786	0.722	0.864
	B	0.160	0.087	0.692	0.409	0.227	0.256	0.138	0.257	0.387	0.214	0.278	0.136
GPI-3	A	0.860	0.978	1	0.841	0.786	0.737	1	0.929	0.850	0.881	0.861	0.621
	B	0.140	0.022		0.159	0.214	0.263		0.071	0.150	0.119	0.139	0.379
PGM-1	A	1	0.913	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	B		0.087										
SOD-1	A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.988	1	1
	B										0.012		
ME-1	A	1	0.761	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	B		0.239										

Monomorfni lokusy: AAT-2\*; ADH\*; CK-2\*; CK-3\*; FBP-2\*; IDH-2\*; IDH-4\*; LDH-2\*; LDH-3\*; LDH-4\*; MDH-1\*; MDH-4\*; 6PGDH\*; GPI-1\*; GPI-2\*; SOD-2\*; ME-2\*; ME-3\*



**Tab. 16: Genetická variabilita porovnávaných populací**

Populace	Průměrná velikost vzorku / lokus	Průměrný počet alel / lokus	% polymorfních lokusů	Průměrná heterozygotnost	
				Ho (SD)	HW-He (SD)
Žichovice	24.8 (0.1)	1.3 (0.1)	25.7	0.071 (0.024)	0.099 (0.03)
Borová Lada	23.0 (0.0)	1.5 (0.1)	34.3	0.116 (0.029)	0.129 (0.03)
Zabie oko	13.0 (0.0)	1.2 (0.1)	17.1	0.062 (0.026)	0.054 (0.02)
Žďárské j	21.7 (0.3)	1.3 (0.1)	25.7	0.114 (0.039)	0.100 (0.03)
Zlatý p 96	21.9 (0.0)	1.3 (0.1)	25.7	0.097 (0.030)	0.114 (0.03)
Blanice D 96	41.7 (0.7)	1.3 (0.1)	28.6	0.100 (0.029)	0.110 (0.03)
Světlá	36.7 (1.2)	1.3 (0.1)	20.0	0.089 (0.032)	0.089 (0.03)
Lenora 97	36.0 (0.5)	1.4 (0.1)	25.7	0.090 (0.031)	0.103 (0.03)
Blanice H 98	39.9 (0.1)	1.3 (0.1)	22.9	0.098 (0.032)	0.092 (0.03)
. Žichovice 99	41.3 (0.3)	1.4 (0.1)	25.7	0.109 (0.034)	0.108 (0.03)
. Husinec 04 wild	35.7 (0.2)	1.3 (0.1)	25.7	0.113 (0.036)	0.102 (0.03)
. Husinec 04 farm	29.5 (1.0)	1.4 (0.1)	25.7	0.104 (0.032)	0.108 (0.03)

**Tab. 17: Matice genetických vzdáleností (nad úhlopříčkou) a podobností (pod úhlopříčkou) – podle Nei (1972)**

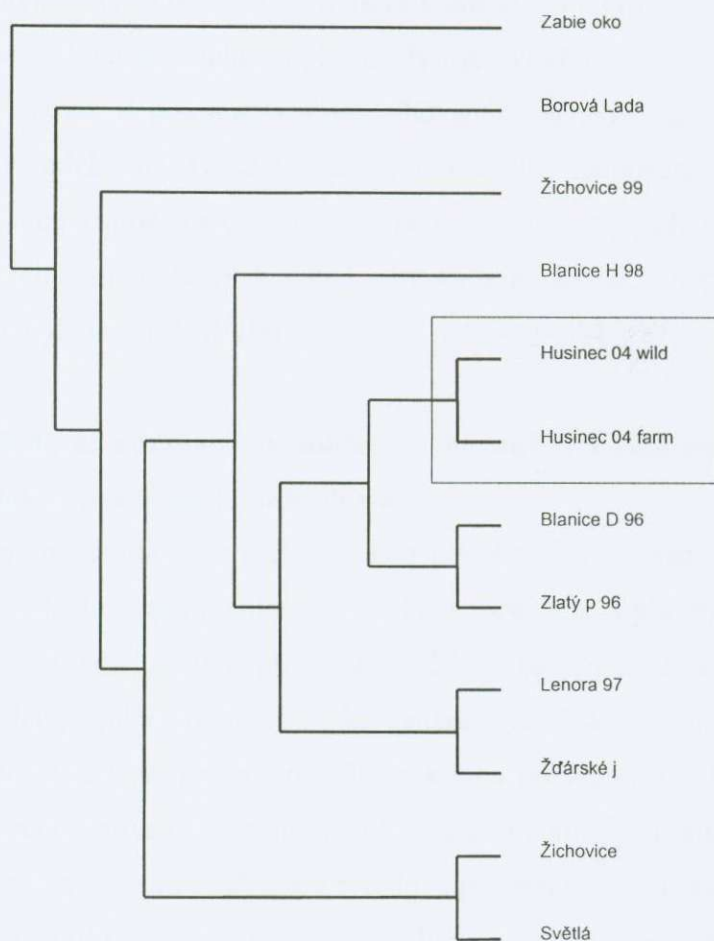
Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Žichovice												
Borová Lada	0,975											
Zabie oko	0,919	0,958										
Žďárské j	0,978	0,986	0,953									
Zlatý p 96	0,989	0,989	0,952	0,994								
Blanice D 96	0,991	0,988	0,946	0,994	0,998							
Světlá	0,993	0,982	0,935	0,984	0,992	0,991						
Lenora 97	0,988	0,99	0,948	0,995	0,996	0,996	0,994					
Blanice H 98	0,987	0,984	0,955	0,994	0,996	0,996	0,987	0,994				
Žichovice 99	0,994	0,984	0,935	0,985	0,994	0,993	0,991	0,995	0,992			
Husinec 04 wild	0,986	0,989	0,954	0,994	0,997	0,996	0,991	0,997	0,996	0,994		
Husinec 04 farm	0,989	0,984	0,942	0,989	0,997	0,996	0,991	0,994	0,993	0,993	0,996	

MIN = 0,919  
MAX = 0,998

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Žichovice		0,025	0,085	0,023	0,011	0,009	0,007	0,012	0,013	0,006	0,014	0,0
Borová Lada			0,043	0,014	0,011	0,012	0,018	0,01	0,016	0,016	0,011	0,0
Zabie oko				0,048	0,049	0,056	0,067	0,054	0,046	0,067	0,047	0,0
Žďárské j					0,006	0,006	0,016	0,005	0,006	0,015	0,006	0,0
Zlatý p 96						0,002	0,008	0,004	0,004	0,006	0,003	0,0
Blanice D 96							0,009	0,004	0,004	0,007	0,004	0,0
Světlá								0,006	0,013	0,009	0,009	0,0
Lenora 97									0,006	0,005	0,003	0,0
Blanice H 98										0,008	0,004	0,0
Žichovice 99											0,006	0,0
Husinec 04 wild												0,0
Husinec 04 farm												

MIN = 0,002  
MAX = 0,085

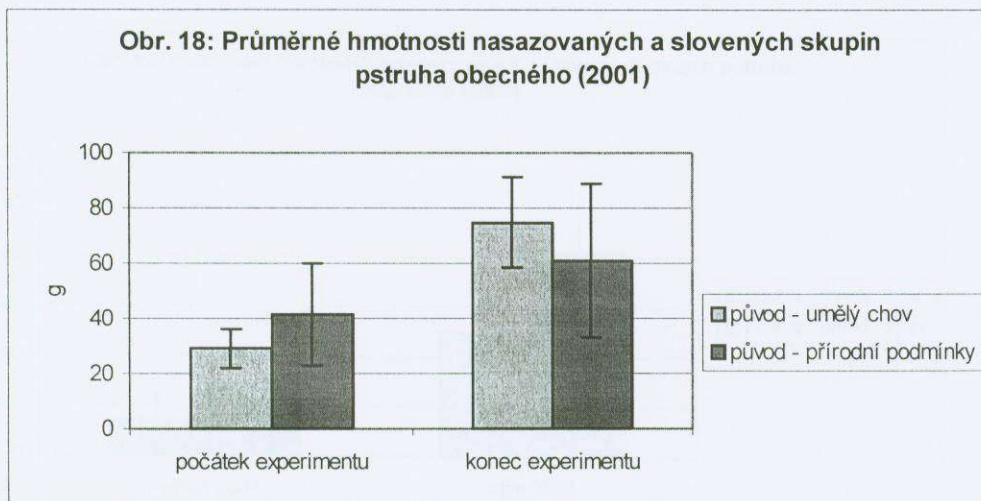
Obr. 17: Pstruh potoční – Šumava 04 (Cavalli-Sforza & Edwards 1967); UPGMA, outgroup = Žabie Oko, Vys. Tatry - Polsko



Obě studované skupiny (Husinec wild, Husinec farm) byly geneticky velmi podobné a příbuzné s dříve studovanými vzorky z povodí Blanice. Analýzami bílkovinných markerů uměle odchovaných pŕlročkŕ pstruha obecného (potomstvo 1. generace uměle odchovaných generačních samic a volně žijících samců) a odlovených stejně starých jedinců pocházejících z přirozeného výtěru v toku Blanice (původní populace) nebylo prokázáno, že by v důsledku odchovu generačních ryb v podmínkách umělého chovu došlo k prokazatelným změnám genetických vlastností jejich potomstva.

Riziko výskytu genetických změn narůstá u populací chovaných v podmínkách umělých chovů s rostoucím počtem generací chovaných a reprodukováných v těchto podmínkách (Swain *et* Riddell, 1990; Berejikian *et al.*, 1996; Fleming *et* Einum, 1997;

potoka pak  $159 \pm 20$  mm. Průměrné hmotnosti pstruhů obecných v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 18.

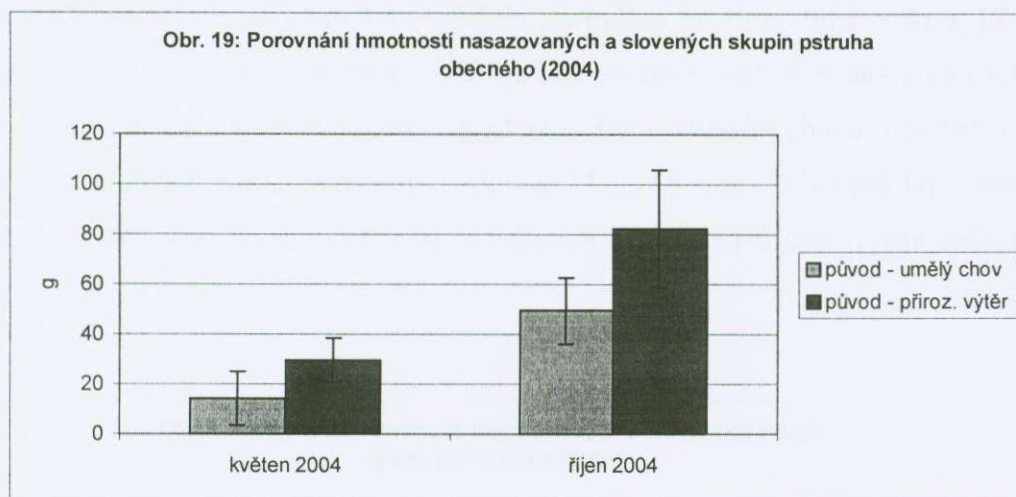


Na počátku ani na konci experimentu nebyla Kruskal-Wallisovým testem prokázána statisticky významná odlišnost hmotností ryb mezi sledovanými skupinami. V případě skupiny pocházející z umělého chovu byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$ ) v průběhu experimentu. U skupiny ryb pocházejících z přírodních podmínek nebyl statisticky významný nárůst hmotnosti prokázán.

Jak vyplývá z uvedených výsledků, rychlejší růst překvapivě vykazovali pstruzi původem z umělého chovu. Přestože při květnovém nasazení ryby z umělého chovu měly nižší průměrnou hmotnost, do října průměrná hmotnost zjištěná v rámci této skupiny dokonce převýšila hmotnost pstruhů pocházejících z chovného potoka. návratnost značených ryb v podzimním období byla u obou skupin prakticky stejná. Vysazené ryby obou skupin setrvaly převážně v úseku vysazení.

Při odlovu prováděném dne 23.10. 2004 bylo odloveno celkem 21 kusů (21 % z nasazeného počtu) označených pstruhů obecných původem z umělého chovu a 24 jedinců (24 % z nasazeného počtu) z označené skupiny původních ryb vyskytujících se v dané lokalitě. 19 jedinců původem z umělého chovu bylo odloveno v úseku vysazení, 1 kus byl odloven ve spodním a 1 kus v horním sledovaném úseku. 21 označených jedinců náležejících k původní populaci bylo odloveno v úseku vysazení, 1 kus v dolním a 2 kusy v horním sledovaném úseku. Průměrná délka těla (SL) jedinců pocházejících z umělého chovu byla  $147 \pm 11$  mm, jedinců pocházejících z řeky Blanice pak  $175 \pm 18$  mm. Průměrné hmotnosti

pstruhů obecných v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 19.

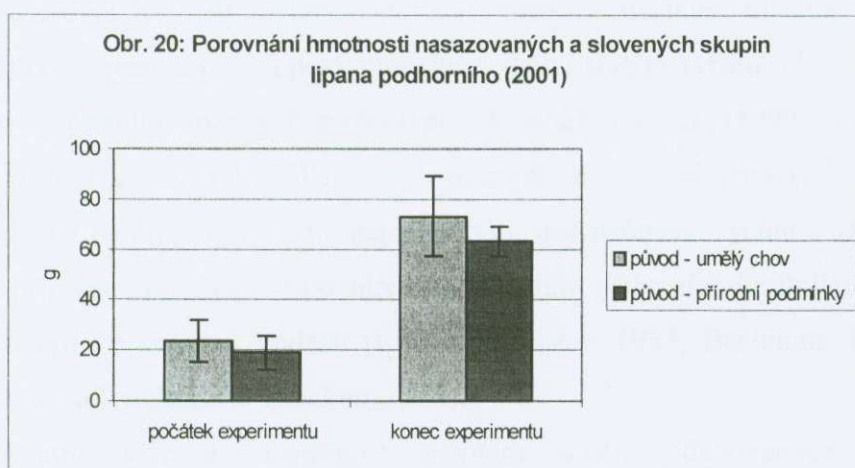


Na počátku experimentu bylo Kruskal-Wallisovým testem prokázáno, že hmotnost nasazovaných uměle odchovaných ryb je významně nižší ( $P < 0,01$ ). V případě obou skupin ryb byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$ ) v průběhu experimentu. Na konci experimentu rozdíl mezi hmotnostmi ryb v jednotlivých skupinách již nebyl statisticky významný.

Původní rozdíly ve velikosti ryb mezi sledovanými skupinami přetrvaly do konce experimentu. Vysazené ryby pocházející z umělého chovu však vykazovaly podobnou intenzitu růstu jako původní jedinci. Mírně nižší návratnost uměle odchovaných ryb mohla být ovlivněna menší velikostí nasazovaných jedinců. Označené ryby obou skupin stejně jako v roce 2001 setrvaly převážně v úseku vysazení.

Čitelnost značek byla v průběhu experimentů velice dobrá. Znemožnění identifikace ryb bylo aplikací 2 značek podstatně omezeno. V případě pstruha obecného lze tedy říci, že ryby pocházející z umělého chovu [jak uměle odchované potomstvo volně žijících ryb (2001), tak potomstvo uměle odchovaných samic a volně žijících samců (2004)] se v říčním toku velice dobře adaptovaly. Nebyly prokázány významné rozdíly v počtu jedinců vyskytujících se v lokalitě původního vysazení mezi skupinami ryb pocházejícími z umělého chovu a z přírodních podmínek. Téměř všechny zpětně na podzim odlovené označené ryby se po 5 měsících od vysazení vyskytovaly v úseku toku, do kterého byly vysazeny. Návratnost ryb po 5 měsících od vysazení se pohybovala v rozmezí 20 – 30 %.

V roce 2002 bylo v úseku původního vysazení dále odloveno celkem 13 kusů označených lipanů podhorních původem z umělého chovu, tj. 16,5 % z původně nasazených. 1 kus náležející k této skupině byl odloven v dolním úseku (pod úsekem vysazení). Ve sledovaných úsecích se tedy udrželo v období od května do října 2001 celkem 17,7 % ryb původem z umělého chovu a pouze 3,8 % ryb pocházejících z extenzivního rybníčního chovu. Průměrná délka těla (SL) jedinců pocházejících z umělého chovu byla  $183 \pm 12$  mm, jedinců pocházejících z odchovného potoka pak  $172 \pm 8$  mm. Průměrné hmotnosti lipanů podhorních v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 20.



Na počátku ani na konci experimentu nebyla Kruskal-Wallisovým testem prokázána statisticky významná odlišnost hmotností ryb mezi sledovanými skupinami. V případě obou skupin byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$  u skupiny pocházející z umělého chovu;  $P < 0,05$  u skupiny pocházející z extenzivního rybníčního chovu) v průběhu experimentu. Jak je patrné z obr. 32 intenzita růstu byla v obou skupinách velmi podobná. Čitelnost značek byla opět velice dobrá. V případě lipana podhorního byla v porovnání se pstruhem obecným pozorována nižší míra adaptability násadového materiálu v podmínkách volných vod. Překvapivě významně vyšší návratnost byla zjištěna u skupiny jedinců pocházejících z umělého chovu.

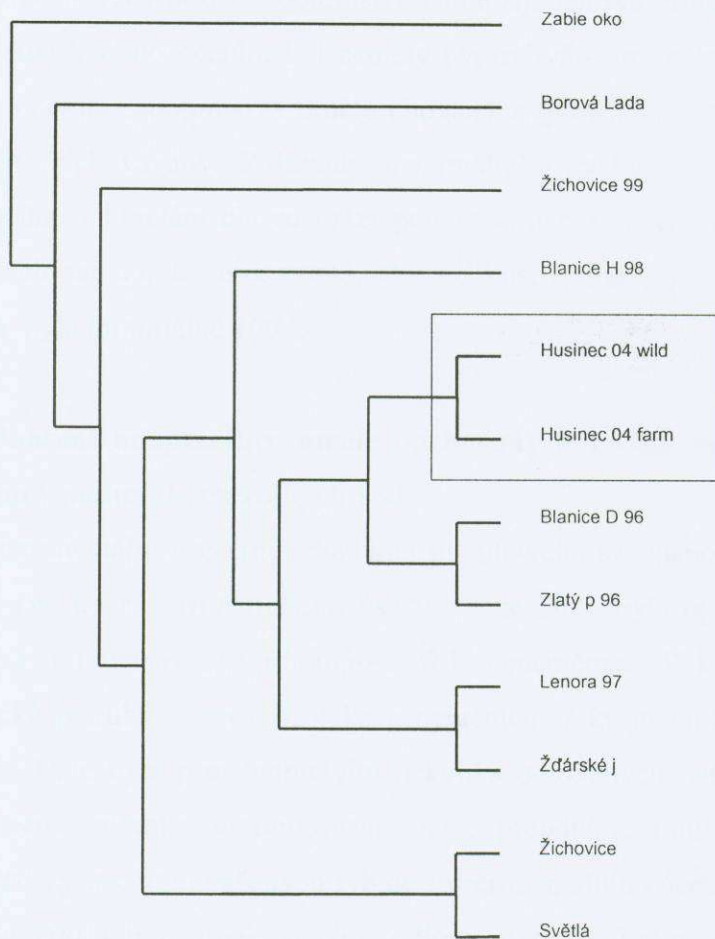
Přestože ve většině do současné doby publikovaných prací autoři konstatují, že přežití a růst vysazených uměle odchovaných ryb je nižší v porovnání s volně žijícími rybami (např. Miller, 1953, 1958; Reimers, 1963; Vincent, 1960; Ersbak *et al.*, 1983; Arias *et al.*, 1995), v experimentech provedených v letech 2001 a 2004 na řece Blanici nebyla v případě pstruha obecného ani lipana podhorního tato skutečnost potvrzena. Dosažené výsledky spíše

odpovídají závěrům Masona *et al.* (1967), kteří prokázali u vysazených ryb intenzivnější růst a vyšší přežití oproti původní obsádce. Přibližně stejnou intenzitu růstu (nezávislou na hustotě obsádky) vysazených uměle odchovaných roček pstruha obecného a stejně starých divokých ryb zaznamenal také Baer (2004). Návratnost (zjišťována tímto autorem po 6 měsících) označených uměle vysazených ryb byla však významně nižší (12 – 19 %) oproti původním stejně starým rybám (40 – 70 %). Dále autor zjistil, že většina vysazených ryb opustila na rozdíl od původních ryb úsek vysazení. Tuto skutečnost pozorovali v rakouských tocích i Weiss *et Schmutz* (1999). Vysazené uměle odchované ryby sledované v rámci experimentů na řece Blanici naopak setrvaly v místě vysazení. Naeslund (1990) pozoroval ve svých experimentech přežití vysazeného uměle odchovaného ročka pstruha obecného po 1 roce od vysazení na úrovni 15 – 30 %, což odpovídalo i našim zjištěním. Intenzita růstu vysazených ryb však byla významně nižší oproti původním stejně starým rybám. Nižší intenzitu růstu u vysazovaných pstruhů obecných pozoroval i Hesthagen *et al.* (1999). Intenzita růstu do experimentálních úseků řeky Blanice vysazených uměle odchovaných ryb, která byla srovnatelná s volně žijícími rybami stejného stáří, nasvědčovala rychlé adaptaci vysazených jedinců na přirozenou potravu. Tato adaptace je jedním z hlavních limitujících faktorů přežití vysazených ryb ve volných vodách (Ersbak *et Haase*, 1983; Bachman, 1984; Johnsen *et Gedal*, 1986; Kelly-Quinn *et Bracken*, 1988).

Podstatný vliv na úspěšnost adaptace uměle odchovaných násad v našich experimentech mohl mít i fakt, že bylo pracováno s potomstvem původních populací (ať už volně žijících, či odchovaných v podmínkách umělého chovu do stadia generační ryby), které byly adaptovány na podmínky experimentálního toku Blanice. Vodou z tohoto toku byly napájeny i odchovné objekty a rybníky. Mnohdy mohou být výsledky zkresleny skutečností, když autoři navzájem porovnávají populace různého původu (Fenderson *et al.*, 1968; Mesa, 1991).

Na základě porovnání s násadami odchovanými v přírodních podmínkách, popř. jedinci pocházejícími přímo z přirozeného výtěru v experimentálním toku lze usuzovat na výrazně dobrou adaptabilitu uměle odchovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního (vysazovaných ve stadiu ročka) v podmínkách volných vod. V případě pstruha obecného byly v těchto experimentech sledované parametry (růst, návratnost, setrvání v úseku vysazení) u porovnávaných skupin srovnatelné. V případě lipana podhorního byla dokonce návratnost ryb pocházejících z umělého chovu významně vyšší oproti rybám pocházejícím z extenzivního přírodního chovu.

Obr. 17: Pstruh potoční – Šumava 04 (Cavalli-Sforza & Edwards 1967); UPGMA, outgroup = Žabie Oko, Vys. Tatry - Polsko



Obě studované skupiny (Husinec wild, Husinec farm) byly geneticky velmi podobné a souzonné s dříve studovanými vzorky z povodí Blanice. Analýzami bílkovinných markerů uměle odchovaných pľuročků pstruha obecného (potomstvo 1. generace uměle odchovaných generálních samic a volně žijících samců) a odlovených stejně starých jedinců pocházejících z přirozeného výtěru v toku Blanice (původní populace) nebylo prokázáno, že by v důsledku chovu generálních ryb v podmínkách umělého chovu došlo k prokazatelným změnám genetických vlastností jejich potomstva.

Riziko výskytu genetických změn narůstá u populací chovaných v podmínkách umělých chovů s rostoucím počtem generací chovaných a reprodukováných v těchto podmínkách (Swain *et* Riddell, 1990; Berejikian *et al.*, 1996; Fleming *et* Einum, 1997;

Deverill *et al.*, 1999). Aby riziko vzniku genetických změn u populací pstruhů obecných chovaných v podmínkách umělých chovů bylo co nejvíce omezeno, bude vhodné generační ryby odchovávat vždy pouze z potomstva volně žijících ryb, přičemž populace volně žijících ryb využívané k těmto účelům by neměly být ovlivňovány vysazováním ryb pocházejících z umělého chovu. Z potomstva uměle chovaných generačních ryb by tedy generační ryby neměly být odchovávány. Z důvodu maximálního zachování původních vlastností bude zřejmě vhodné v umělém chovu držet pouze samice a jejich jikry oplodňovat spermatem volně žijících samců. Je však nutné, aby velikost každé z populací využívaných k umělé reprodukci byla minimálně 100 ks.

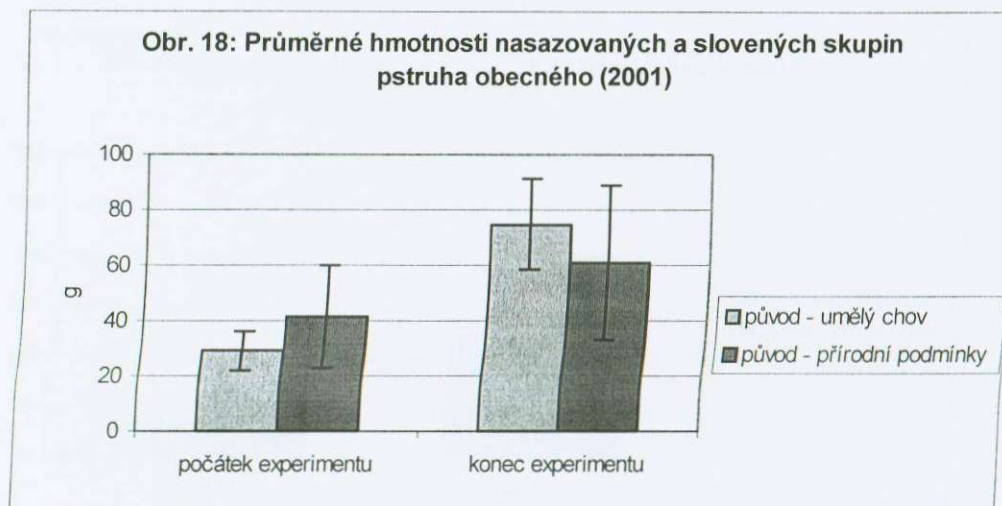
#### **5.4.4 Hodnocení adaptability uměle odchovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního v podmínkách volných vod**

Experimentální úsek měl charakter pstruhového až lipanového toku. Před vysazením značených ryb do experimentálního úseku v roce 2001 byla opakovanými odlovy v tomto úseku (cca 3 500 m<sup>2</sup>) zjištěna přítomnost 22 ks generačních, 38 ks juvenilních (dvouletých) a 85 ks roček pstruhů obecných, 4 ks generačních, 7 ks juvenilních a 15 ks roček lipanů podhorních. Dále byla prostřednictvím několika odlovených jedinců prokázána přítomnost ranky obecné, mřenky mramorované, jelce proudníka, mníka jednovousého a plotice obecné. Před vysazením značených ryb do experimentálního úseku v roce 2004 (stejný úsek jako v roce 2001) byla opakovanými odlovy v tomto úseku zjištěna přítomnost 28 ks generačních, 32 ks juvenilních (dvouletých) a 360 ks roček pstruhů obecných, 15 ks generačních, 19 ks juvenilních a 55 ks roček lipanů podhorních. Dále se vyskytovala (několik jedinců) vranka obecná, mřenka mramorovaná a jelec proudník. Celkový počet prisazených značených pstruhů obecných do experimentálního úseku v roce 2001 odpovídal 80 % původní obsádky ročka, v roce 2004 pak 28 % původní obsádky ročka. Celkový počet prisazených značených lipanů podhorních do experimentálního úseku v roce 2001 byl přibližně desetinásobně vyšší než původní obsádka ročka.

Při odlovu prováděném dne 20.10. 2001 bylo elektrickým agregátem odloveno celkem 20 kusů (27,6 % z nasazeného počtu) označených pstruhů obecných původem z umělého chovu a 20 ks (27,0 % z nasazeného počtu) pstruhů obecných původem z odchovného potoka. Žádní jedinci pocházející z umělého chovu byli odloveni pouze v úseku vysazení. 19 kusů pstruhů pocházejících z odchovného potoka bylo odloveno v úseku vysazení, pouze 1 ks pak v následujícím sledovaném úseku (pod úsekem vysazení). Průměrná délka těla (SL) jedinců pocházejících z umělého chovu byla  $174 \pm 15$  mm, jedinců pocházejících z odchovného



potoka pak  $159 \pm 20$  mm. Průměrné hmotnosti pstruhů obecných v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 18.

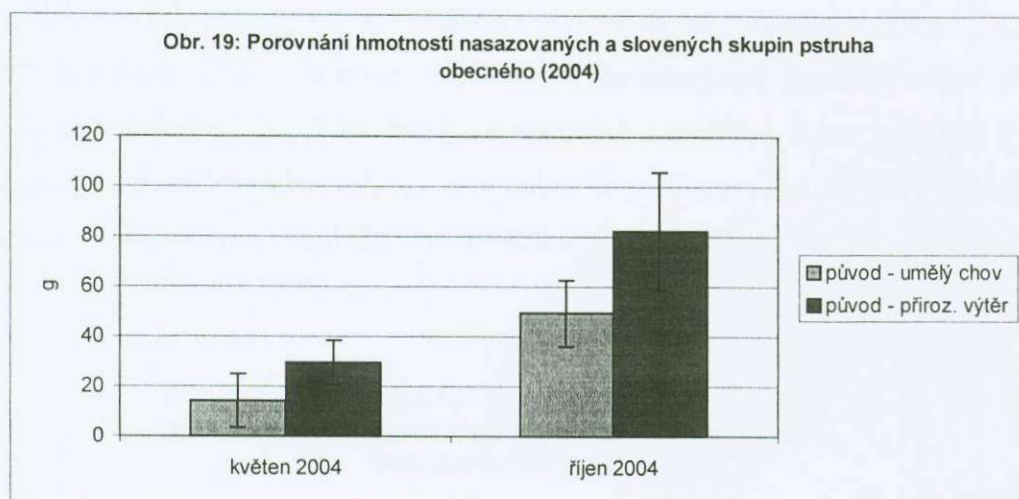


Na počátku ani na konci experimentu nebyla Kruskal-Wallisovým testem prokázána statisticky významná odlišnost hmotností ryb mezi sledovanými skupinami. V případě skupiny pocházející z umělého chovu byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$ ) v průběhu experimentu. U skupiny ryb pocházejících z přírodních podmínek nebyl statisticky významný nárůst hmotnosti prokázán.

Jak vyplývá z uvedených výsledků, rychlejší růst překvapivě vykazovali pstruzi původem z umělého chovu. Přestože při květnovém nasazení ryby z umělého chovu měly nižší průměrnou hmotnost, do října průměrná hmotnost zjištěná v rámci této skupiny dokonce převýšila hmotnost pstruhů pocházejících z chovného potoka. Návratnost značených ryb v podzimním období byla u obou skupin prakticky stejná. Vysazené ryby obou skupin setrvaly převážně v úseku vysazení.

Při odlovu prováděném dne 23.10. 2004 bylo odloveno celkem 21 kusů (21 % z nasazeného počtu) označených pstruhů obecných původem z umělého chovu a 24 jedinců (24 % z nasazeného počtu) z označené skupiny původních ryb vyskytujících se v dané lokalitě. 19 jedinců původem z umělého chovu bylo odloveno v úseku vysazení, 1 kus byl odloven ve spodním a 1 kus v horním sledovaném úseku. 21 označených jedinců náležejících k původní populaci bylo odloveno v úseku vysazení, 1 kus v dolním a 2 kusy v horním sledovaném úseku. Průměrná délka těla (SL) jedinců pocházejících z umělého chovu byla  $147 \pm 11$  mm, jedinců pocházejících z řeky Blanice pak  $175 \pm 18$  mm. Průměrné hmotnosti

pstruhů obecných v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 19.



Na počátku experimentu bylo Kruskal-Wallisovým testem prokázáno, že hmotnost nasazovaných uměle odchovaných ryb je významně nižší ( $P < 0,01$ ). V případě obou skupin ryb byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$ ) v průběhu experimentu. Na konci experimentu rozdíl mezi hmotnostmi ryb v jednotlivých skupinách již nebyl statisticky významný.

Původní rozdíly ve velikosti ryb mezi sledovanými skupinami přetrvaly do konce experimentu. Vysazené ryby pocházející z umělého chovu však vykazovaly podobnou intenzitu růstu jako původní jedinci. Mírně nižší návratnost uměle odchovaných ryb mohla být ovlivněna menší velikostí nasazovaných jedinců. Označené ryby obou skupin stejně jako v roce 2001 setrvaly převážně v úseku vysazení.

Čitelnost značek byla v průběhu experimentů velice dobrá. Znemožnění identifikace ryb bylo aplikací 2 značek podstatně omezeno. V případě pstruha obecného lze tedy říci, že ryby pocházející z umělého chovu [jak uměle odchované potomstvo volně žijících ryb (2001), tak potomstvo uměle odchovaných samic a volně žijících samců (2004)] se v říčním toku velice dobře adaptovaly. Nebyly prokázány významné rozdíly v počtu jedinců vyskytujících se v lokalitě původního vysazení mezi skupinami ryb pocházejícími z umělého chovu a z přírodních podmínek. Téměř všechny zpětně na podzim odlovené označené ryby se po 5 měsících od vysazení vyskytovaly v úseku toku, do kterého byly vysazeny. Návratnost ryb po 5 měsících od vysazení se pohybovala v rozmezí 20 – 30 %.

V roce 2002 bylo v úseku původního vysazení dále odloveno celkem 13 kusů označených lipanů podhorních původem z umělého chovu, tj. 16,5 % z původně nasazených. 1 kus náležející k této skupině byl odloven v dolním úseku (pod úsekem vysazení). Ve sledovaných úsecích se tedy udrželo v období od května do října 2001 celkem 17,7 % ryb původem z umělého chovu a pouze 3,8 % ryb pocházejících z extenzivního rybníčního chovu. Průměrná délka těla (SL) jedinců pocházejících z umělého chovu byla  $183 \pm 12$  mm, jedinců pocházejících z odchovného potoka pak  $172 \pm 8$  mm. Průměrné hmotnosti lipanů podhorních v jednotlivých skupinách na začátku a na konci experimentu jsou znázorněny na obr. 20.



Na počátku ani na konci experimentu nebyla Kruskal-Wallisovým testem prokázána statisticky významná odlišnost hmotností ryb mezi sledovanými skupinami. V případě obou skupin byl zjištěn signifikantní nárůst hmotnosti ( $P < 0,01$  u skupiny pocházející z umělého chovu;  $P < 0,05$  u skupiny pocházející z extenzivního rybníčního chovu) v průběhu experimentu. Jak je patrné z obr. 32 intenzita růstu byla v obou skupinách velmi podobná. Čitelnost značek byla opět velice dobrá. V případě lipana podhorního byla v porovnání se pstruhem obecným pozorována nižší míra adaptability násadového materiálu v podmínkách volných vod. Překvapivě významně vyšší návratnost byla zjištěna u skupiny jedinců pocházejících z umělého chovu.

Přestože ve většině do současné doby publikovaných prací autoři konstatují, že přežití a růst vysazených uměle odchovaných ryb je nižší v porovnání s volně žijícími rybami (např. Miller, 1953, 1958; Reimers, 1963; Vincent, 1960; Erbak *et Haase*, 1983; Arias *et al.*, 1995), v experimentech provedených v letech 2001 a 2004 na řece Blanici nebyla v případě pstruha obecného ani lipana podhorního tato skutečnost potvrzena. Dosažené výsledky spíše

odpovídají závěrům Masona *et al.* (1967), kteří prokázali u vysazených ryb intenzivnější růst a vyšší přežití oproti původní obsádce. Přibližně stejnou intenzitu růstu (nezávislou na hustotě obsádky) vysazených uměle odchovaných roček pstruha obecného a stejně starých divokých ryb zaznamenal také Baer (2004). Návratnost (zjišťována tímto autorem po 6 měsících) označených uměle vysazených ryb byla však významně nižší (12 – 19 %) oproti původním stejně starým rybám (40 – 70 %). Dále autor zjistil, že většina vysazených ryb opustila na rozdíl od původních ryb úsek vysazení. Tuto skutečnost pozorovali v rakouských tocích i Weiss *et Schmutz* (1999). Vysazené uměle odchované ryby sledované v rámci experimentů na řece Blanici naopak setrvaly v místě vysazení. Naeslund (1990) pozoroval ve svých experimentech přežití vysazeného uměle odchovaného ročka pstruha obecného po 1 roce od vysazení na úrovni 15 – 30 %, což odpovídalo i našim zjištěním. Intenzita růstu vysazených ryb však byla významně nižší oproti původním stejně starým rybám. Nižší intenzitu růstu u vysazovaných pstruhů obecných pozoroval i Hesthagen *et al.* (1999). Intenzita růstu do experimentálních úseků řeky Blanice vysazených uměle odchovaných ryb, která byla srovnatelná s volně žijícími rybami stejného stáří, nasvědčovala rychlé adaptaci vysazených jedinců na přirozenou potravu. Tato adaptace je jedním z hlavních limitujících faktorů přežití vysazených ryb ve volných vodách (Ersbak *et Haase*, 1983; Bachman, 1984; Johnsen *et Ugedal*, 1986; Kelly-Quinn *et Bracken*, 1988).

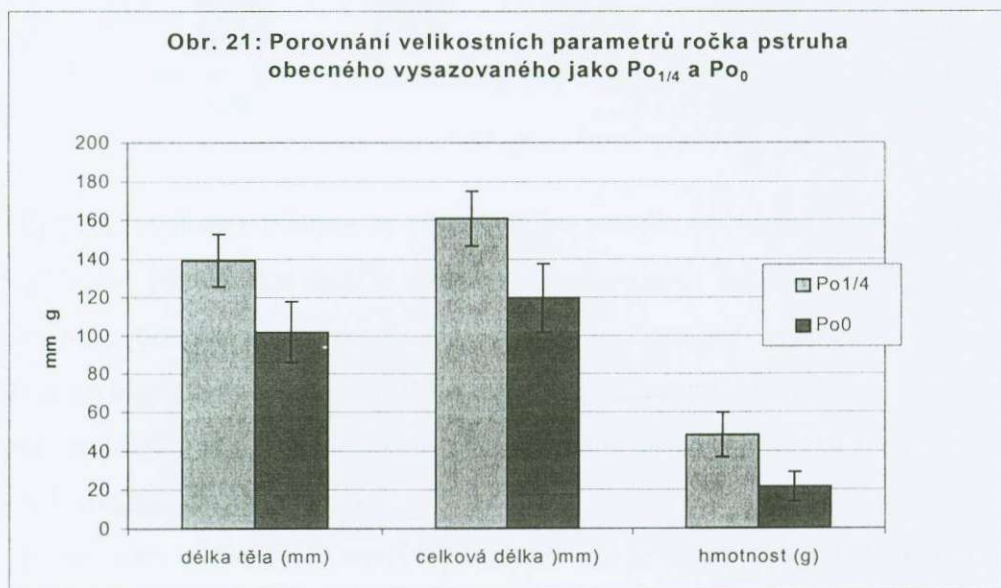
Podstatný vliv na úspěšnost adaptace uměle odchovaných násad v našich experimentech mohl mít i fakt, že bylo pracováno s potomstvem původních populací (ať už volně žijících, či odchovaných v podmínkách umělého chovu do stadia generační ryby), které byly adaptovány na podmínky experimentálního toku Blanice. Vodou z tohoto toku byly napájeny i odchovné objekty a rybníky. Mnohdy mohou být výsledky zkresleny skutečností, že autoři navzájem porovnávají populace různého původu (Fenderson *et al.*, 1968; Mesa, 1991).

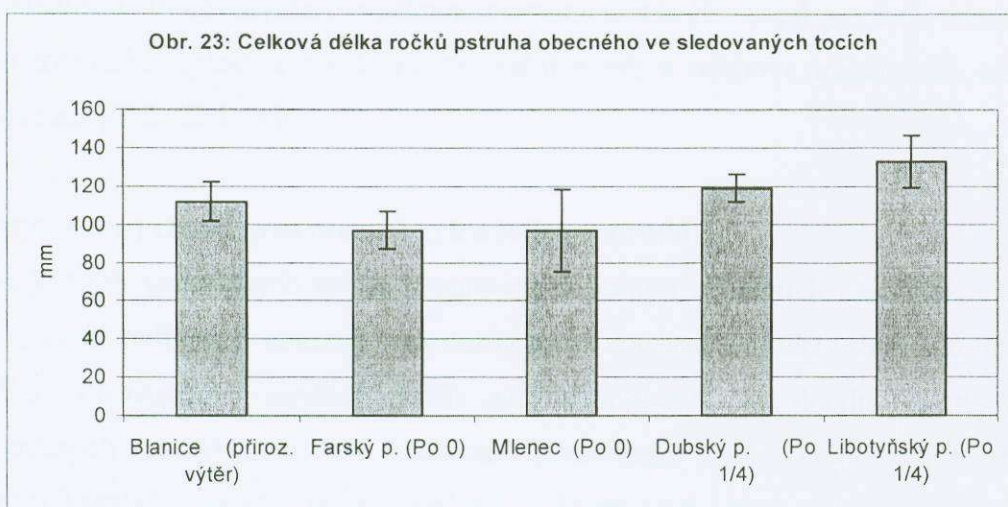
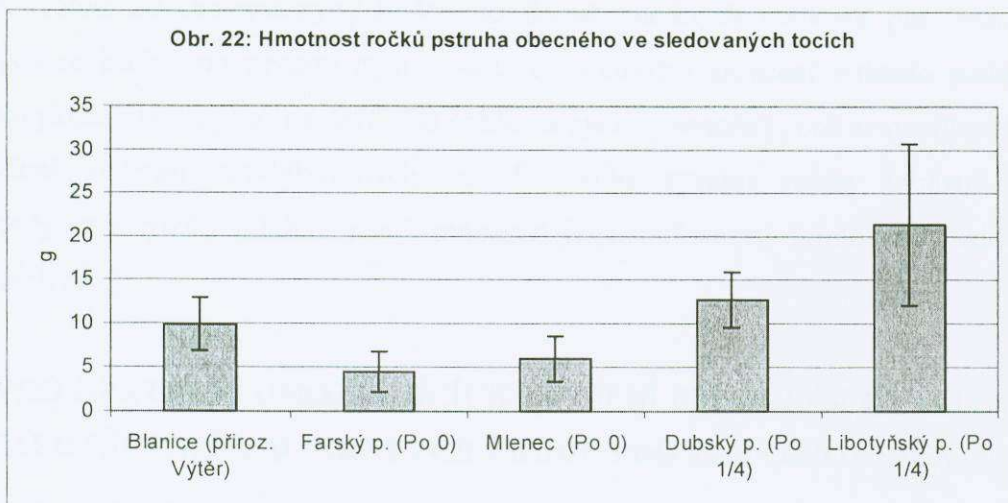
Na základě porovnání s násadami odchovanými v přírodních podmínkách, popř. s jedinci pocházejícími přímo z přirozeného výtěru v experimentálním toku lze usuzovat na velice dobrou adaptabilitu uměle odchovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního (vysazovaných ve stadiu ročka) v podmínkách volných vod. V případě pstruha obecného byly v obou experimentech sledované parametry (růst, návratnost, setrvání v úseku vysazení) u porovnávaných skupin srovnatelné. V případě lipana podhorního byla dokonce návratnost ryb pocházejících z umělého chovu významně vyšší oproti rybám pocházejícím z extenzivního rybníčního chovu.

## 5.5 HODNOCENÍ EFEKTIVITY ODCHOVU NÁŠAD PSTRUHA OBECNÉHO VYSAZOVANÉHO VE STADIU ČTVRTRŮČKA V ODCHOVNÝCH POTOCÍCH

V rámci sledování provedených v červnu 2005 bylo prokázáno, že velikost (SL, TL, hmotnost) ročních jedinců vysazovaných ve stadiu čtvrtročka byla statisticky významně vyšší ( $P < 0,01$ ) oproti jedincům vysazovaným ve stadiu plůdku (Obr. 21). Samozřejmě určitou roli mohl sehrát vliv prostředí (každá populace pocházela z jiného potoka), ale v minulosti při stejném způsobu hospodaření nebyly mezi obsádkami násadových ryb odlovovaných z těchto potoků zjišťovány významné velikostní rozdíly.

V rámci sledování provedených v listopadu 2005 bylo prokázáno, že velikost (SL, TL, hmotnost) ročních jedinců vysazovaných ve stadiu čtvrtročka byla v obou potocích opět významně vyšší ( $P < 0,01$ ) oproti jedincům vysazovaným ve stadiu plůdku (Obr. 22, 23). Velikost ročků v eutrofizovaném úseku Libotyňského potoka byla dokonce významně vyšší ( $P < 0,01$ ) než velikost jedinců z řeky Blanice pocházejících z přirozeného výtěru. Velikost těchto jedinců umožňuje jejich efektivní vysazení do rybářských revírů již po roce odchovu v odchovném potoce.





Zjištěné výsledky týkající se růstu plůdku pstruha obecného v odchovných potocích potvrdily údaje Nieslanika (2005) zjištěné v moravských tocích. Tento autor uvádí, že násadové ryby pocházející z nasazeného čtvrtročka dosahují významně větších velikostí v porovnání s klasickým systémem. Dále uvádí, že návratnost dvouletých násad vysazených ve stadiu čtvrtročka se pohybuje okolo 50 %. Přežití násad čtvrtročka v našich odchovných potocích dosud nebylo hodnoceno.

Nasazování odchovných potoků čtvrtčkem se jeví jako velice perspektivní z hlediska zvýšení produkce kvalitních násad pstruha obecného. Pozdější (v rámci vegetační sezóny) vysazení již dobře vyvinutého plůdku do odchovných potoků, tzn. vysazení ryb až v době dostatku přirozené potravy, zabraňuje jeho hladovění a následným ztrátám. Tato skutečnost umožňuje vysazovat několikanásobně (3 – 5násobně) méně kusů plůdku při zachování počtu obvykle odlovovaných násadových ryb z daného toku (Nieslanik, 2005). V důsledku intenzivnějšího růstu ryb vysazovaných ve stadiu čtvrtročka je v některých (úživných)

potocích reálné, že chované ryby budou dosahovat vhodných velikostí pro vysazení do rybářských revírů již po prvním roce života. Toto umožní zkrácení v těchto podmínkách dosud obvyklého dvouletého odchovného cyklu na cyklus jednoletý, což se pozitivně projeví na zvýšení objemu produkovaných násad. Tento systém může výrazně přispět k efektivnějšímu využití plůdku, jehož množství je v současnosti limitováno nedostatkem generačních ryb.

## **5.6 NÁVRH OPATŘENÍ UMOŽŇUJÍCÍCH ZVÝŠENÍ PRODUKCE KVALITNÍCH A ADAPTABILNÍCH NÁSAD CÍLOVÝCH DRUHŮ PRO ZARYBŇOVÁNÍ VOLNÝCH VOD**

Z hlediska efektivnějšího využívání přírodních zdrojů se jako velmi vhodné jeví propojení tradičních způsobů získávání generačních ryb a odchovu násadového materiálu s prvky intenzivní akvakultury.

### **5.6.1 Management chovu generačních ryb a jejich reprodukce**

Nedostatek generačních ryb je v současnosti jedním z hlavních limitujících faktorů, který negativně ovlivňuje množství produkovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního. Významného zvýšení počtu generačních ryb lze docílit jejich chovem v kontrolovaných podmínkách. Při zakládání generačních hejn, které budou chovány v podmínkách umělého chovu, je nejvhodnější vycházet z původních volně žijících populací vyskytujících se v dané oblasti. Jako velice vhodné se ukázalo řešení, v rámci kterého byly při umělé reprodukci využívány jak ryby z umělého chovu, tak volně žijící ryby odlovované z přírodního toku.

Chovatelské objekty určené k chovu pstruha obecného a lipana podhorního by měly mít k dispozici vydatný celoroční zdroj kvalitní napájecí vody, jejíž teplota by ani v ročních maximech neměla překračovat 18 °C. V dosažitelné vzdálenosti od takového objektu by se měla nacházet přírodní lokalita sloužící jako zdroj volně žijících generačních ryb. Podmínky v této lokalitě by měly umožňovat efektivní odlov těchto ryb (alespoň v podzimním období). Jako velmi vhodné se v tomto směru jeví chráněné rybí oblasti (CHRO), ve kterých je eliminován tlak sportovního rybolovu, což je jeden z hlavních faktorů nízkého výskytu generačních ryb v rybářských revírech.

Při volbě těchto CHRO je zapotřebí preferovat úseky co nejvíce odpovídající přírodnímu toku, co nejméně zatěžované průmyslovými a komunálními odpadními vodami. V rámci celé CHRO by měla být pro ryby zachována možnost migrace. CHRO by v tomto

směru měly i komunikovat s navazujícími úseky toku. Velikost oblastí by měla umožňovat výskyt řádově minimálně několika set generačních ryb. V rámci populací v CHRO se nedoporučuje provádět žádná selekční opatření. Doplnění populací generačních ryb v těchto oblastech by se mělo realizovat pouze v důsledku přirozené reprodukce. Původní volně žijící populace pstruhů obecných a lipanů podhorních vyskytující se v takovýchto lokalitách by měly sloužit jako rodičovské populace při zakládání populací dále chovaných v kontrolovaných podmínkách. Do vlastních CHRO a jejich přítoků by nemělo být vysazováno potomstvo uměle chovaných ryb.

Aby v důsledku dlouhodobého působení (po několik generací) podmínek umělého chovu nedošlo k významným fenotypovým a genetickým změnám u chovaných generačních ryb a následně u jejich potomstva, je nutné generační hejna vždy odchovávat z potomstva volně žijících ryb získávaných z výše charakterizovaných úseků volných vod (např. CHRO), které nejsou ovlivňovány vysazováním potomstva chovaných ryb. V případě, že k produkci násadového materiálu budou využívány pouze 1. generace uměle chovaných ryb, je možno předpokládat, že zůstanou maximálně zachovány původní vlastnosti rodičovských populací. Z důvodu maximálního zachování původních vlastností u potomstva je také vhodné v umělém chovu držet pouze samice (případně malé množství samců pro lepší dozrávání samic) a jejich jikry oplodňovat spermatem volně žijících samců (např. z CHRO).

### **Specifika pro pstruha obecného**

Odchov generačních ryb v kontrolovaných podmínkách je vhodné realizovat již od stadia plůdku. Každá generace chovných ryb by měla být odchováána z potomstva volně žijících ryb. Vlastní odchov plůdku je popsán níže v části "Management produkce násadového materiálu".

Technologii odchovu remontních a generačních ryb je nutno přizpůsobit kvalitě vody napájející odchovné nádrže. V případě, že jsou nádrže napájeny z toku, ve kterém se vyskytují ryby, tzn. že existuje reálné riziko přenosu patogenů, nedoporučuje se k odchovu pstruha obecného používat zemní rybníčky. V tomto případě se osvědčily silně průtočné nádrže s pevným dnem o objemu několika desítek m<sup>3</sup>.

Krmení odchovávaných ryb (plůdku, remontních i generačních ryb) je vhodné provádět pouze pomocí granulovaných krmných směsí renomovaných výrobců. Osvědčily se směsi pro pstruha duhového s nižším obsahem tuku. Při vlastním krmení je možno postupovat dle krmných návodů příslušných výrobců směsí, přičemž krmné dávky by se měly pohybovat



na spodní hranici doporučených hodnot. Krmení přirozenou potravou ani náhražkovými krmivy (např. slezina) v celém průběhu odchovu nelze doporučit.

Umělé výtěry chovaných ryb jsou obvykle prováděny ve stejných termínech jako výtěry mateřské populace volně žijících ryb. S populacemi ryb (volně žijící, chované) je nutno manipulovat odděleně, aby nedošlo k jejich promíchání. Při vlastním umělém výtěru není nutno využívat hormonální stimulaci. Anestetikum je možno použít jako vhodný prostředek eliminující poškození generačních ryb větších velikostí. Ihned po provedení umělého výtěru je vhodné provést krátkodobou koupel v roztoku manganistanu draselného a poté ryby vypustit zpět do prostředí, ze kterého byly získány (volně žijící ryby zpět do toku, chované ryby zpět do odchovných nádrží). Jikry uměle odchovaných samic je vhodné oplodňovat spermatem volně žijících samců náležejících k původní rodičovské populaci. Jikry obou skupin ryb je nutno inkubovat odděleně, přičemž je nutné dbát na přehledné označení inkubačních aparátů. V průběhu 1. umělého výtěru dané generace chovaných ryb je vhodné z chovu odstranit většinu samců. Z důvodu zachování variability chovaných populací se nedoporučuje provádět v rámci chovaných hejn žádné další úmyslné selekce (kromě případného vyřazení nemocných ryb). Na základě našich dosavadních zkušeností je možno chované ryby úspěšně využívat k umělé reprodukci po několik let (min. 4 roky). Povýtěrová mortalita chovaných ryb je minimální.

Velice vhodným opatřením umožňujícím identifikaci ryb je jejich značení, které může být jak skupinové (např. systém VIE spočívající v implantaci barevných elastomerových značek pod vrchní (průhlednou) vrstvu kůže), tak individuální (čipy, popř. systém VIA spočívající v implantaci viditelných barevných destiček s alfanumerickými kódy pod vrchní vrstvu kůže). Značení je možno provést kdykoli, pokud velikost značených ryb odpovídá požadavkům příslušných značících metod. V případě malých velikostí ryb dochází k významným ztrátám aplikovaných značek. Z tohoto důvodu je vhodné značení provádět až od stadia remontních ryb.

### **Specifika pro lipana podhorního**

Získávání generačního materiálu z volných vod je v současnosti velice problematické. Příčinou je klesající počet generačních ryb v tocích a také jejich špatná odlovitelnost v předvýtěrovém období v důsledku vysokých stavů vody v jarních měsících. V předvýtěrovém období jsou navíc generační ryby extrémně citlivé vůči manipulaci i působení elektrického proudu. Tento fakt se projevuje vysokou povýtěrovou mortalitou uměle vytíraných ryb.

Jelikož odchov generačních lipanů podhorních v podmínkách intenzivního chovu se nepodařilo (z důvodu úniku remontních ryb při povodních v roce 2002) realizovat až do stadia generačních ryb, vztahují se níže uvedená doporučení na extenzivní způsoby jejich chovu. Z literárních údajů a zkušeností některých chovatelů je však zřejmé, že jikry generačních lipanů podhorních, kteří byli odchováni pomocí kompletních krmných směsí, se obvykle vykazují špatnou kvalitou, projevující se nízkou oplozeností. Na problematiku intenzifikace chovu generačních lipanů podhorních včetně zachování kvality pohlavních produktů bude zaměřen další výzkum. Podmínkou je dostupnost nutričním požadavkům generačních lipanů podhorních odpovídající kompletní krmné směsi. Tato směs není v současné době k dispozici.

Pro odchov generačních ryb v extenzivních podmínkách je možné využívat vhodné nádrže rybničního typu, kanály, atp. Hlavním zdrojem výživy je v těchto podmínkách přirozená potrava. Odchov generačních ryb je možno v takovýchto nádržích realizovat již od stadia plůdku, ale je také možné do těchto podmínek vysazovat remontní či již dospělé ryby odlovené v přírodních podmínkách. Kvalita jiker generačních lipanů podhorních odchovaných v rybničním prostředí je velmi často zhoršená a projevuje se jejich nízkou oplozeností. Pokud jsou po umělém výtěru generační ryby vypouštěny zpět do těchto nádrží, je často následně pozorována jejich vysoká (často téměř totální) povýtěrová mortalita.

Jako perspektivní se jeví systém, kdy jsou generační lipani podhorní odlovováni z toků (např. z CHRO) v podzimním období (při odlovu generačních pstruhů obecných) a přes zimní období umístěování ve vhodných (průtočných, dostatečně hlubokých) nádržích (např. rybnících). V jarním období když ryby začnou vytahovat do přítoku jsou nádrže sloveny a ryby přemístěny do menších manipulačních nádrží v blízkosti líhně. Na těchto nádržích je za účelem zvýšení teploty snížen průtok vody. Ryby jsou kontrolovány a zralé vytírány (2 – 3 výtěry s odtupem 1 týdne). Po provedení umělého výtěru jsou ryby vypouštěny zpět do vodního toku. Vysazení ryb do přírodního toku významně snižuje jejich povýtěrovou mortalitu a umožní jejich opětovné využití v dalších sezónách. Kvalita takto získaných jiker je velmi dobrá a projevuje se vysokou oplozeností jiker a tedy lepší efektivitou celého chovu. Odpadají i náklady spojené s odchovem generačních ryb v kontrolovaných podmínkách.

Při vlastním umělém výtěru není nutno využívat hormonální stimulaci. Naopak její použití může významně zvýšit povýtěrovou mortalitu generačních ryb. Velice vhodné je při umělém výtěru používat anestetika. V důsledku jejich použití prakticky nedochází k výraznějšímu poškození generačních ryb, které je považováno za hlavní příčinu povýtěrové

mortality. V důsledku anestetikem vyvolaného uvolnění svalstva se i významně zvýší počet uměle vytřených samic. Jako perspektivní z hlediska dalšího snižování povýtěrové mortality se jeví intramuskulární aplikace antibiotik. Tato alternativa je však stále testována. Ihned po provedení umělého výtěru je vhodné provést krátkodobou koupel v roztoku manganistanu draselného a poté ryby vypustit zpět do původního toku.

### 5.6.2 Management produkce násadového materiálu

Odchov vlastních násad pstruha obecného a lipana podhorního je možno provádět intenzivním i extenzivním způsobem.

V případě extenzivního způsobu je plůdek v období přechodu na exogenní výživu či již rozkrmený plůdek vysazován v případě pstruha obecného do chovných kapilár (potoků), v případě lipana podhorního do průtočných nádrží rybničního typu s dostatkem přirozené potravy. V těchto podmínkách jsou produkovány 1 – 2leté násady.

V případě intenzivního způsobu je plůdek odkrmován pomocí granulovaných krmných směsí ve zhuštěných obsádkách ve speciálních nádržích. V prvních několika týdnech odchovu jsou obvykle využívány mělké plastové žlaby, později návazné žlabové systémy, kruhové nádrže, případně rybničky, sádky, atp. Obvykle bývá odchov ukončen ve stadiu ročka a ryby vysazeny do volných vod, případně jsou takto odchované ryby použity pro další chov do stadia generačních ryb.

Za velice perspektivní je možno považovat opět kombinaci intenzivního a extenzivního způsobu odchovu násad pstruha obecného i lipana podhorního. Princip této technologie spočívá v intenzivním odchovu plůdku v prvních 2 – 3 měsících života a v jeho následném vysazení do odchovných potoků a nádrží k dalšímu extenzivnímu odchovu na přirozené potravě. Tento systém významně eliminuje ztráty plůdku v prvních měsících života. Pozdější (v rámci vegetační sezóny) vysazení již dobře vyvinutého plůdku do odchovných potoků a nádrží, tzn. vysazení ryb až v době dostatku přirozené potravy, zabraňuje jeho hladovění a následným ztrátám. Větší velikost vysazovaného plůdku umožňuje vysazovat několikanásobně (3 – 5násobně) méně jedinců při zachování počtu obvykle odlovovaných násadových ryb z daného toku. V důsledku intenzivnějšího růstu ryb vysazovaných ve stadiu čtvrtročka je v některých (úživných) potocích reálné, že chované ryby budou dosahovat vhodných velikostí pro vysazení do rybářských revírů již po prvním roce života. Toto umožní zkrácení v těchto podmínkách dosud obvyklého dvouletého odchovného cyklu na cyklus jednoletý, což se pozitivně projeví na zvýšení objemu produkovanych násad. Násadový materiál získaný pomocí této technologie je již dobře adaptován na přírodní podmínky. Tento

system může výrazně přispět k efektivnějšímu využití plůdku, jehož množství je v současnosti limitováno nedostatkem generačních ryb.

V průběhu experimentů bylo prokázáno, že použití krmných směsí v prvních fázích odchovu plůdku pstruha obecného i lipana podhorního je možné, ale je zapotřebí dodržovat následující zásady:

- zpočátku ruční krmení s vysokou frekvencí na celou plochu žlabu
- důsledné čištění nádrží
- pravidelná kontrola zdravotního stavu obsádky
- používání kvalitních krmných směsí optimálních velikostí s co nejnižším obsahem tuku
- granule krmiva pro pstruha obecného by neměly plavat na hladině, ale pozvolna se potápět; v případě lipana podhorního mohou být plovoucí
- v případě lipana je vhodné v průběhu prvních týdnů odchovu několikrát podat s krmnou směsí i zooplankton
- zpočátku udržovat nízký sloupec vody ve žlabu (cca 10 cm)

V důsledku vytvoření návyku na krmné směsi už v rané fázi vývoje plůdku odpadá mnohdy problematické získávání planktonu, je umožněn pravidelný přísun krmiva v odpovídajícím množství, z velké části dochází k eliminaci rizika zavlečení parazitárních infekcí. Vytvoření návyku na granulované krmné směsi dále umožňuje pokračovat v odchovu plůdku v podmínkách umělých chovů a v konečném důsledku odchovat i generační hejna, která budou sloužit ke zvýšení produkce v současné době nedostatkového násadového materiálu.

## 6. ZÁVĚRY

- 1) Bylo zjištěno, že průmyslové, ale i běžné komunální znečištění může v lokalitách, ve kterých nedochází k výraznému naředění odpadních vod, významně ovlivňovat hormonální soustavy ryb a tedy potenciálně ovlivňovat úspěšnost reprodukce. Takto ovlivněné úseky toků nelze doporučit jako zdroje generačních ryb pro umělé rozmnožování.
- 2) V podmínkách umělého chovu se podařilo odchovat generační hejno pstruhů obecných. Odchované ryby byly úspěšně opakovaně (2002 – 2005) uměle vytírány.
- 3) Byl prokázán pozitivní vliv aplikace exogeních hormonů na zvýšení počtu ovulujících samic lipana podhorního. Obdobný efekt byl však docílen i použitím anestetika bezprostředně před umělým výtěrem. Byla prokázána vysoká povýtěrova mortalita generačních ryb, které byly po výtěru umístěny v rybničním prostředí. Vysoká efektivita (relativně nízká mortalita generačních ryb, velmi dobrá kvalita jiker) byla prokázána u systému, kdy byly generační ryby odlovovány z přírodního toku (CHRO) v podzimním období, přes zimní období byly přechovávány v rybničním prostředí, na jaře uměle vytírány, přičemž byla využívána anestetika, aplikace antibiotik a desinfekční koupele, a po umělém výtěru vysazovány zpět do přírodního toku.
- 4) Na základě porovnání s referenční (původní rodičovskou) volně žijící populací je možno konstatovat, že podmínky umělého chovu generačních pstruhů obecných významným způsobem neovlivnily většinu sledovaných reprodukčních ukazatelů. Uměle chované ryby vykazovaly obdobné reprodukční cykly jako ryby volně žijící. U potomstva chovaných ryb nebyly v případě ontogenetického vývoje a genetických markerů zjištěny významné rozdíly v porovnání s potomstvem volně žijících ryb. Na základě porovnání s násadami odchovanými v přírodních podmínkách, popř. s jedinci pocházejícími přímo z přirozeného výtěru v experimentálním toku lze usuzovat na velice dobrou adaptabilitu uměle odchovaných násad F1 generace pstruha obecného a lipana podhorního v podmínkách volných vod.
- 5) Vysazováním pstruha obecného do chovných potoků až ve stadiu čtvrtročka lze významně zvýšit efektivitu odchovu jeho násad.
- 6) **Výsledky práce naznačují, že pomocí racionálnějšího využívání přírodních zdrojů v kombinaci s prvky intenzivní akvakultury lze významně zvýšit produkci kvalitního násadového materiálu pstruha obecného a lipana podhorního, který si zachovává vlastnosti původních volně žijících populací.**

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

- Aas, G. H., Refstie, T., Gjerde B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95: 125 - 132.
- Adámek, Z., Jirásek, J., Sukop, I., Příhoda, J., Halama, M., Černý, J., 1989. Potrava a růst plůdku hlavatky a lipana v rybníčních podmínkách . In: Berka, R.: Chov lososovitých ryb (sborník referátů z konference), ČSVTS při VÚRH a SRŠ, Vodňany: 104 – 108.
- Allendorf, F. W., Phelps, S. P., 1980. Loss of genetic variation in hatchery stock of cutthroat trout. *T. Am. Fish. Soc.*, 109: 537 - 543.
- Allendorf, F. W., Waples, R. S., 1995. Conservation and genetics of salmonid fishes. In: Avise, J. C., Hamrick, J. L., (eds.): *Conservation Genetics: Case Histories from the Nature* . New York, Chapman & Hall: 238 - 280.
- Anděl, J., 1993. *Statistické metody*. Matfyzpress Praha , 246 s.
- Arabaci, M., Diler, I., Sari, M., 2004. Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified busserelin (GnRH $\alpha$ ) and its effects on egg quality. *Aquaculture*, 237 (1 – 4): 475 – 484.
- Arias L., Sanchez, L., Martinez, P., 1995. Low stocking incidence in brown trout populations from northwestern Spain monitored by LDH-5\* diagnostic markers. *J. Fish Biol.*, 47: 170 - 176.
- Astaurov, B. L., Detlaf, T. A. (eds.), 1975. Radužnaja forel' *Salmo gairdnerii* Richardson, 1836. In: *Objekty biologii razvitija*. Nauka, Moskva: 278-307.
- Baer, J., 2004. Stocking hatchery-reared brown trout in different densities into a wild population – a comparison of growth and movement. In: *Nature and Culture: Comparative Biology and Interactions of Wild and Farmed Fish*, Annual International Symposium Imperial College, London, 8.
- Bagenal, T. B., 1969. Relationship between egg size and fry survival in brown trout *Salmo trutta* L. *J. Fish Biol.*, 1: 349 – 353.
- Bachman, R. A., 1984. Foraging behaviour of free-ranging wild and hatchery brown trout in a stream. *T. Am. Fish.Soc.*, 113: 1 - 32.
- Balk, F., Ford, R.A., 1999. Environmental risk assessment for the polycyclic musks AHTN and HHCb in the EU - I. Fate and exposure assessment. *Toxicology Letters*, 111 (1-2): 57 – 79.
- Balon, E., 1953. Stáří a růst lipana (*Thymallus thymallus*) z Revúce (Slovensko). *Zool. A entomol. Listy*, Brno, 3: 131 – 137.
- Balon, E., 1962. Vek a rast neresového stádia lipňa (*Thymallus thymallus* (Linnaeus, 1758)) z údolnej nádrže na rieke Hnilec. *Zool. Listy*, 11 (2): 145 – 154.
- Balon, E. K. (ed.), 1985. *Early life history of fishes. New Developmental, Ecological and Evolutionary Perspectives*. Dr. W. Junk Publisher, 280 p.
- Balon, E. K., 1986. Saltatory ontogeny and evolution. *Rivista di Biologia – Biology Forum*, 79(2): 151 - 190.
- Balon, E. K., 1999. Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). *Environ. Biol. Fish.*, 56: 17 - 38.
- Banks, W. J., 1969. A review of the literature on the upstream migration of adult salmonids. *J. Fish Biol.*, 1: 85 – 136.
- Bardonnet, A., Gaudin, P., 1990a. Diel pattern of emergence in grayling (*Thymallus thymallus*, Linnaeus, 1758). *Can. J. Zool.*, 68: 465 - 469.
- Bardonnet, A., Gaudin, P., 1990b. Diel pattern of first downstream post-emergent displacement in grayling, *Thymalus thymallus* (L., 1758). *J. Fish Biol.*, 37: 623 - 627.

- Bardonnet, A., Gaudin, P., Thorpe, J. E., 1993. Diel rhythm of emergence and of first displacement downstream in trout (*Salmo trutta*), Atlantic salmon (*S. salar*) and grayling (*Thymallus thymallus*). J. Fish Biol., 43: 755 - 762.
- Baruš, V., Oliva, O., et al., 1995. Mihulovci *Petromyzontes* a ryby *Osteichthyes*. Academia, Praha, 623 s.
- Bastl, I., 1962. Porovnanie presnosti Bayerovej a gravimetrickej metódy zisťovania počtu ikier a príspevok k poznaniu počtu ikier lipňa obyčajného (*Thymallus thymallus* (L.)) z Hnileckej údolnej nádrže. Práce Labor. Rybárstva SAV, 1: 163 - 172.
- Beacham, T. D., Withler, F. C., Morley, R. B., 1985. Effect of egg size on incubation time and alevin and fry size in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Can. J. Zool., 63: 847 - 850.
- Bennie, D. T., Sullivan, C. A., Lee, H. B., Peart, T. E., Maguire, R. J., 1997. Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great lakes basin and the upper St Lawrence River. Sci. T. Environ., 193: 263 - 275.
- Berejikian, B. A., Mathews, S. B., Quinn, T. P., 1996. Effects of hatchery and wild ancestry and rearing environments on the development of agonistic behavior in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Canadian Journal of Aquatic Sciences, 53: 2004 - 2014.
- Blankenship, H. L., Tipping, J. M., 1993. Evaluation of visible implant and sequentially coded wire tags in sea-run cutthroat trout. N. Am. J. Fish. Manage., 13: 391 - 394.
- Borgström, R., Skaala, O., Aastveit, A. H., 2002. High mortality in introduced brown trout depressed potential gene flow to a wild population. J. Fish Biol., 61: 1085 - 1097.
- Brannas, E., Jonsson, S., Lunquist, H., 2003. Influence of food abundance on individual behaviour strategy and growth rate in juvenile brown trout (*Salmo trutta*). Can. J. Zool., 81 (4): 684 - 691.
- Bryan, R. D., Ney, J. J., 1994. Visible implant tag retention by and effects on condition of a stream population of brook trout. N. Am. J. Fish. Manage., 14: 216 - 219.
- Carline, R. F., Machung, J. F., 2001. Critical thermal maxima of wild and domestic strains of trout. T. Am. Fish. Soc., 130: 1211 - 1216.
- Carlstein, M., 1993. Natural food and artificial, dry starter diets: effects on growth and survival in intensively reared European grayling. Aquacul. Int., 1: 112 - 123.
- Carlstein, M., 1997. Effects of rearing technique and fish size on post-stocking feeding, growth and survival of European grayling, *Thymallus thymallus* (L.). Fish. Manage. Ecol., 4 (5): 391 - 404.
- Carmie, H., Morelet, B., Maise, G., Jonard, L., Cuinat, R., 1985. Observations sur la reproduction artificielle de l'Ombre commun (*Thymallus thymallus*). B. Fr. Peche Piscic., 296: 2 - 16.
- Carmie, H., Jonard, L., 1988. Staring of grayling (*Thymallus thymallus* L.) larvae and production of estival juveniles exclusively using dry food. B. Fr. Peche Piscic., 311: 103 - 112.
- Clapp, F. D., Clark, J. D. R., Diana, J. S., 1990. Range, activity and habitat of large, free-ranging brown trout in a Michigan Stream. T. Am. Fish. Soc., 119: 1022 - 1034.
- Coutant, C. C., 1998. What is „normative“ for fish pathogens? A perspective on the controversy over interactions between wild and cultured fish. J. Aquat. Anim. Health, 10: 101 - 106.
- Cowx, I. G., 1994. Stocking strategies. Fisheries Manag. Ecol., 1: 15 - 30.
- Cresswell R. C., 1981. Post-stocking movements and recapture of hatchery-reared trout released into flowing waters a review. J. Fish Biol., 18: 429 - 442.
- Crisp, D.T., 2000. Trout and Salmon: Ecology, Conservation and Rehabilitation. Fishing News books, Oxford

- Čermák, J., 2002. Úpravy a regulace vodních toků , aneb proč ubývá pstruh obecný? *Rybářství*, 4: 180 .
- Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1997. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. *Informatorium*, Praha, 218 s.
- Davis, P. E., Sloane, R. D., 1987. Characteristic of the spawning migrations of brown trout, *Salmo trutta* L., and rainbow trout, *S. gairdneri* Richardson, in Great Lake, Tasmania. *J. Fish Biol.*, 31: 353 – 373.
- Deverill, J. I., Adams, C. E., Bean, C. W., 1999. Prior residence, aggression and territory acquisition in hatchery-reared and wild brown trout. *J. Fish Biol.*, 55: 868 – 875.
- Dorabawilla, N., Gupta, G., 2005. Endocrine disrupter – estradiol – in Chesapeake Bay tributaries. *J. Hazard. Mater.*, 120 (1-3): 67 – 71.
- Dussault, E. B., Sherry, J. P., Lee, H. B., Burnison, B. K., Bennie, D. T., Servos, M. R., 2005. In vivo estrogenicity of nonylphenol and its ethoxylates in the Canadian environment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 11 (2): 353 - 364.
- Dyk, V., Podubský, V., Štědronský E., 1949. Umělý chov ryb. Brno, 220 s.
- Dyk, V., Podubský, V., Štědronský E., 1956. Základy našeho rybářství. SZN, Praha, 521 s.
- Dyk, V., 1956. Potravní základna v pstruhových vodách. *Sb. ČSAZV – Živočišná Výroba*, 29 (12): 985 – 990.
- Dyk, V., 1957. Nejvyšší polohy výskytu pstruha obecného formy potoční v ČSR. *Zool. Listy*, 6 (4): 358 – 366.
- Dyk, V., 1965. K variabilitě zbarvení pstruhů obecných formy potoční. *Živa*, 13 (3): 110 – 111.
- Dyk, V., 1983. Nejstarší zprávy o lipanu podhorním. *Rybářství*, 2: 29.
- Einum, S., 2003. Atlantic salmon growth in strongly food-limited environments: Effects of egg size and paternal phenotype? *Environ. Biol. Fish.*, 67: 263 -268.
- Einum, S., Fleming, I. A., 2001. Implications of stocking: Ecological interactions between wild and released salmonids. *Nordic Journal of Freshwater Research*, 75: 56 - 70.
- Ersbak, K., Haase, B. L., 1983. Nutritional deprivation after stocking as a mechanism leading to mortality in stream-stocked brook trout. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 3: 142 - 151.
- Estay, F. J., Noriega, R., Ureta, J. P., Martin, W., Colihueque, N., 2004. Reproductive performance of cultured brown trout (*Salmo trutta* L.) in Chile. *Aquac. Res.*, 35: 447 - 452.
- Evans, D.M., 1994. Observation on the spawning behaviour of male and female adult sea trout *Salmo trutta trutta* L., using radio-telemetry. *Fisheries Manag. Ecol.*, 1: 91 – 105.
- Fabricius, E., Gustafson, K. J., 1955. Observations on the spawning behaviour of the grayling, *Thymallus thymallus* (L.). *Rep. Inst. Freshwat. Res.*, Drottningholm, 36: 76 - 103.
- Fenderson, O. C., Everhart, W. H., Muth, K. M., 1968. Comparative agonistic and feeding behavior of hatchery-reared and wild salmon in aquaria. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 25: 1 - 14.
- Fjellheim, A., Raddum, G.G., Barlaup, B.T., 1995. Dispersal, growth and mortality of brown trout (*Salmo trutta* L.) stocked in a regulated West Norwegian river. *Regul. Rivers Res. Manage.*, 10 (3 – 4): 137 – 145.
- Fleming, I. A., Gross, M. R., 1990. Latitudinal clines: A trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology*, 71: 1 - 11.
- Fleming, I. A., Gross, M. R., 1992. Reproductive behavior of hatchery and wild coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): does it differ? *Aquaculture*, 103: 101 - 121.
- Fleming, I. A., Jonsson, B., Gross, M. R., Lamberg, A., 1996. An experimental study of the reproductive behaviour and success of farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Appl. Ecol.*, 33: 893 - 905.



- Fleming, I. A., Einum, S., 1997. Experimental tests of genetic divergence of farmed from wild Atlantic salmon due to domestication. *ICES Journal of Marine Science*, 54: 1051 - 1063.
- Fleming, I. A., Lamberg, A., Jonsson, B., 1997. Effects of early experience on the reproductive performance of Atlantic salmon. *Behav. Ecol.*, 8: 470 - 480.
- Fleming, I. A., Peterson, E., 2001. The ability of released, hatchery salmonids to breed and contribute to the natural productivity of wild populations. *Nordic Journal of Freshwater Research*, 75: 71 - 98.
- Fowler, L. G., 1972. Growth and mortality of fingerling chinook salmon as affected by egg size. *Progressive Fish-Culturist*, 34 (2): 66 - 69.
- Frank, S., 1962. A contribution to the growth and food biology of the brown trout *Salmo trutta trutta* m. *fario* and *Salmo trutta trutta labrax* m. *fario* in some waters of Czechoslovakia. *Věst. čs. Společ. zool.*, 26 (4): 316 - 323.
- Fromme, H., Otto, T., Pilz, K., 2001. Polycyclic musk fragrances in different environmental compartments in Berlin (Germany). *Water Res.*, 35 (1): 121 - 128.
- Garcia A., Brana, F., 1988. Reproductive biology of brown trout (*Salmo trutta* L) in the Aller river (Asturias; Northern Spain). *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 35: 361 - 373.
- Gerking, S.D., 1959. The restricted movement of fish populations. *Biol. Rev.*, 34: 221 - 242.
- Gönczi, A. P., 1989. A study of physical parameters at the spawning site of the European grayling (*Thymallus thymallus* L.). *Regulated Rivers: Res. Manage*, 3: 221 - 224.
- Gray, R. W., Cameron, J. D., McLennon, A. D., 1987. Artificial reconditioning, spawning and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., kelts in salt water and survival of their F1 progeny. *Aquaculture and Fisheries Management*, 18: 309 - 326.
- Gross, R., Kühn, R., Baars, M., Schröder, W., Stein, H., Rottmann, O., 2001. Genetic differentiation of European grayling populations across the Main, Danube and Elbe drainages in Bavaria. *J. Fish Biol.*, 58: 264 - 280.
- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S. N., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Lutzhoft, H. C. H., Jorgensen, S. E., 1998. Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceuticals Substances in the Environment - A review. *Chemosphere*, 36 (2): 357 - 393.
- Hamáčková, J., Sedova, M.A., Pjanova, S.V., Lepičová, A., Lepič, P., Kouřil, J., 2002. Použití anestetik u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) při různých teplotách vody. Sborník referátů z odborné konference Produkce násadového materiálu ryb a raků, VÚRH JU Vodňany: 46 - 51.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Kozák, P., Stupka, Z., Kouřil, J., Lepič, P., 2004. The efficacy of various anaesthetics in tench (*Tinca tinca* L.) related to water temperature. *Vet. Med. - Czech.*, 49 (12): 467 - 472.
- Hanselman, T. A., Graetz, D. A., Wilkie, C., 2003. Manure-Borne estrogens as potential environmental contaminants: A Review. *Environ. Sci. Technol.*, 37 (24): 5471 - 5478.
- Hansen, P. D., Dizer, H., Hock, B., Marx, A., Sherry, J., McMaster, M., Blaise, C. 1998: Vitellogenin: a biomarker for endocrine disruptors. *Trends Anal. Chem.* 17 (7): 448 - 451.
- Hansen, M. M., Ruzzante, D. E., Nielsen, E. E., Mensberg, K. D., 2000. Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). *Mol. Ecol.*, 9: 583 - 594.
- Harcup, F.M., Williams R., Ellis, D.M., 1984. Movements of brown trout, *Salmo trutta* L., in the River Gwyddon, South Wales. *J. Fish Biol.*, 24: 415 - 426.
- Harsányi, A., Aschenbrenner, P., 2002. Vývoj obsádky a rozmnožování lipana (*Thymallus thymallus*) v dolním Bavorsku. *Bulletin VÚRH, Vodňany*, 3: 99 - 127.
- Hawkins, L.A., Armstrong, J.D., Magurran, A.E., 2004. Predator-induced hyperventilation in wild and hatchery Atlantic salmon fry. *J. Fish Biol.*, 65 : 88 - 100.

- Hecker, M., Tyler, CH.R., Hoffman, M., Maddix, S., Karbe, L., 2002. Plasma biomarkers in fish provide evidence for endocrine modulation in the Elbe River, Germany. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 2311 – 2321.
- Hedenskog, M., Petersson, E., Järvi, T., 2002. Agonistic behavior and growth in newly emerged brown trout (*Salmo trutta* L.) of sea-ranched and wild origin. *Aggressive Behaviour*, 28: 145 - 153.
- Heggberget, T. G., and six coauthors, 1993. Interactions between wild and cultured Atlantic salmon: a review of the Norwegian experience. *Fish. Res.*, 18: 123 - 146.
- Hellawell, J. M., 1971. The food of grayling *Thymallus thymallus* (L.) of the River Lugg, Herefordshire. *J. Fish Biol.*, 3: 187 - 97.
- Hensel, K., 1999. To be a juvenile and to be a larva: an attempt to synthesize. *Environ.. Biol. Fish.*, 56: 277 - 280.
- Hesthagen, T., 1988. Movements of brown trout, *Salmo trutta*, and juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, in a coastal stream in northern Norway. *J. Fish Biol.*, 32: 639 – 653.
- Hesthagen, T., Floystad, L., Hegge, O., Staurnes, M., Skurdal, J., (1999). Comparative life-history characteristics of native and hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L., in a sub-Alpine reservoir. *Fisheries Manag. Ecol.*, 6: 47 – 61.
- Hindar, K., Ryman, N., Utter, F., 1991. Genetic effects of cultured fishes on natural fish populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48: 945 - 957.
- Hojesjo, J., Johnsson, J., Bohlin, T., 2004. Habitat complexity reduces the growth of aggressive and dominant brown trout (*Salmo trutta*) relative to subordinates. *Behav. Ecol. and Sociobiol.*, 56 (3): 286 – 289.
- Hosnedl, T., Hajšlová, J., Kocourek, V., Tomaniová, M., Volka, K., 2003. 1-hydroxypyrene as a biomarker for fish exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 71: 465 – 472.
- d'Hulstere , D., Philippart, J.C., 1982. Observations sur le comportement d'éclosion et de post-éclosion chez l'ombre commun, *Thymallus thymallus* L. *Can. Ethol. Appl.*, 2: 63 - 80.
- Huet, M., 1986. Textbook of Fish Culture. Breeding and Cultivation of Fish, 2<sup>nd</sup> edn. Fishing News Books, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Huntingford, F.A., 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *J. Fish Biol.*, 65: 122 – 142.
- Hutchings, J.A., 1991. Fitness consequences of variation in egg size and food abundance brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Evolution*, 45: 1162 - 1168.
- Hwang, P. C., Idler, D. R., 1969. A study of major cations, osmotic pressure, and pH in seminal components of Atlantic salmon. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 26: 413 - 419.
- Chan, P. C., Huff, J., 1997. Arsenic carcinogenesis in animals and humans. *Environ. Carcin. Ecotox. Rews.*, 15: 83 – 122.
- Christiansen, L. B., Pedersen, K. L., Korsgaard, B., Bjerregaard, J., 1998. Estrogenicity of xenobiotics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using in vivo synthesis of vitellogenin as a biomarker. *Mar. Environ. Res.* 46: 137 – 140.
- Jarrams, P., 1979. Egg, fry and smolt production from salmon, *Salmo salar* L. and sea trout *Salmo trutta* L. reared entirely in fresh water. *J. Fish. Biol.*, 15: 607 - 611.
- Johnsen, B. O., Ugedal, O., 1986. Feeding by hatchery-reared and wild brown trout, *Salmo trutta* L., in a Norwegian stream. *Aquaculture and Fisheries Management*, 17: 281 - 287.
- Johnson, M., 1983. An evaluation of stream trout stocking in Langlade, Lincoln and Marathon counties. Wisconsin Department of Natural Resources, Fish Management Report, 114: 7 p.

- Johnsson, J. I., Carlsson, M., Sundstrom, L. F., 2000. Habitat preference increases territorial defence in brown trout (*Salmo trutta*). *Behav. Ecol. and Sociobiol.*, 48 (5): 373 – 377.
- Jonkers, N., Laane, R.W.P., de Voogt, P., 2003. Fate of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in two Dutch estuaries: Evidence of biodegradation in the field. *Environ. Sci. Technol.* 37: 321 – 327.
- Jonsson, B., 1985. Life history patterns of freshwater resident and sea run migrant brown trout in Norway. *T. Am. Fish. Soc.*, 114: 182 – 194.
- Jonsson, B., 1997. A review of ecological and behavioural interactions between cultured and wild Atlantic salmon. *ICES Journal of Marine Science*, 54: 1031 - 1039.
- Karels, A., Markkula, E., Oikari, A., 2001. Reproductive, biochemical, physiological, and population responses in perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.) downstream of two elemental chlorine-free pulp and paper mills. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 1517 - 1527.
- Kallio-Nyberg, I., Koljonen, M. L., 1997. The genetic consequence of hatchery-rearing on life-history traits of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a comparative analysis of sea-ranched salmon with wild and reared parents. *Aquaculture*, 153: 207 - 224.
- Kavalec, J., 1989. Výroba násadového materiálu lososovitých ryb v Českém rybářském svazu. In: Berka, R.: Chov lososovitých ryb (sborník referátů z konference), ČSVTS při VÚRH a SRŠ Vodňany: 99 - 103.
- Keith, L.H., 1997. Environmental endocrine disruptors. John Wiley and Sons, New York, 1232 p.
- Kelly-Quinn, M., Bracken, J. J., 1988. Brown trout, *Salmo trutta* L., production in an Irish coastal stream. *Aquaculture and Fisheries Management*, 19: 69 -95.
- Kelly-Quinn, M., Bracken, J. J., 1989. A comparison of the diet of wild and stocked hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L., fry. *Aquaculture and Fisheries Management*, 20: 325 – 328.
- Kohane, M. J., Parsons, P. A., 1988. Domestication. Evolutionary change under stress. *Evol. Biol.*, 23: 31- 48.
- Kolářová J., 2000. Přehled onemocnění lipana podhorního (*Thymallus thymallus*). *Bulletin VÚRH, Vodňany*, 36 (4): 130 - 142.
- Kolpin, D. W., 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams 1999-2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 1202 - 1211.
- Kouřil, J., Barth, T., Fila, F., Příhoda, J., Flegel, M., 1987a. Použití syntetického analogu lososiho Gn-RH k indukovanému umělému výtěru jikernaček lipana podhorního (*Thymallus thymallus* L.). *Bulletin VÚRH, Vodňany*, 3: 3 – 10.
- Kouřil, J., Barth, T., Štěpán, J., Fila, F., Příhoda, J., Flegel, M., 1987b. Umělý výtěr jikernaček lipana podhorního (*Thymallus thymallus* L.) při použití indukované ovulace pomocí analodu LH-RH a hypofýzy. *Bulletin VÚRH, Vodňany*, 2: 3 – 11.
- Kouřil, J., Barth, T., 1989. Použití syntetických analogů Gn-RH k indukci a synchronizaci ovulace jikernaček lipana podhorního (*Thymallus thymallus*). In: Berka, R.: Chov lososovitých ryb (sborník referátů z konference), ČSVTS při VÚRH a SRŠ, Vodňany: 84 – 90.
- Kováč, V., Copp, G.H., 1999. Prelude: looping at early development of fishes. *Environ. Biol. Fish.*, 56: 7 - 14.
- Kredl, F., Svobodník, J., Svobodová, Z., 1989. Residues of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in fish coming from different localities in the Czech Republic. *Vet. Med., Praha*, 34: 239 – 250.
- Krueger, C. C., Menzel, B. W., 1979. Effects of stocking on genetics of wild brook trout populations. *T. Am. Fish. Soc.*, 108: 377 - 387.

- Kupka, J., 1967. Užitelnost matečných lipanů k opakovanému výtěru. Bulletin VÚRH, Vodňany, 2: 23 – 33.
- Kupka, J., 1968. Plodnost lipana podhorního (*Thymallus thymallus* L.). Živočišná Výroba, 13: 527 – 536.
- L'Abée-Lund, J. H., 1991. Stocking of hatchery-reared fish an enhancement method? Fauna, 44: 173 - 180.
- L'Abée-Lund, J.H., Hindar, K., 1990. Interpopulation variation in reproductive traits of anadromous female brown trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol., 37: 755 - 763.
- L'Abée-Lund, J.H., Saegrov, H, 1991. Resource use, growth and effects of stocking in alpine brown trout, *Salmo trutta*, L. Aquaculture and Fisheries Management, 22 (4): 519 – 526.
- L'Abée-Lund, J.H., Saegrov, H., Lura, H., 1992. Resource partitioning and spatial segregation in native and stocked brown trout, *Salmo trutta*, L., and Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., in a hydroelectric reservoir. Aquaculture and Fisheries Management, 23 (5): 623 – 632.
- Lachance, S., Magnan, P., 1990. Performance of domestic, hybrid, and wild strains of brook trout, *Salvelinus fontinalis*, after stocking: the impact of intra- and interspecific competition. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 47: 2278-2284.
- Lahnsteiner, F., Urbanyi, B., Horvath, A., Weismann, T., 2001. Bio-markers for egg quality determination in cyprinid fish. Aquaculture, 195 (3-4): 331 -352.
- Largiader, C. R., Scholl, A., 1995. Effects of stocking on the genetic diversity of brown trout populations of the Adriatic and Danubian drainages in Switzerland. J. Fish Biol., 47: 209 - 225.
- Leider, S. A., Hulett, P. L., Loch, J. J., Chilcote, M. W., 1990. Electrophoretic comparison of the reproductive success of naturally spawning transplanted and wild steelhead trout through the returning adult stage. Aquaculture, 88: 239 - 252.
- Lelek, A., 1984. Threatened fishes of Europe. In: The Freshwater Fishes of Europe 9 (eds European Committee for the Conservation of Nature, Natural Resources-Council of Europe), 93–96. AULA-Verlag, Wiesbaden.
- Leszek, A., Ciesla, M., 2000. Lipan v Polsku – rozšiřování a zarybňování. Bulletin VÚRH, Vodňany, 4: 110 – 113.
- Leszek, A., Kowalewski, M., Ciesla, M., 2000. Umělý výtěr lipana v Polsku. Bulletin VÚRH, Vodňany, 4: 126 – 129.
- Li, M. H., Wang, Z. R., 2005. Effect of nonylphenol on plasma vitellogenin of male adult guppies (*Poecilia reticulata*). Environ. Toxicol., 20 (1): 53 - 59
- Libosvářský, J., 1967. The spawning run of brown trout, *Salmo trutta* m. *fario* L., and its analysis. Folia Zool. Brno, 16 (1): 73 – 86.
- Libosvářský, J., 1968. A study of brown trout population (*Salmo trutta* m. *fario* L.) in Loučka Creek (Czechoslovakia). Acta Sci. Nat., Brno, 2 (7): 1 – 56.
- Libosvářský, J., 1974. Further notes on the spawning run of brown trout into Hadůvka Brook. Folia Zool., Brno, 23 (3): 261 – 274.
- Libosvářský, J., 1976. On the ecology of spawning migration of brown trout. Folia Zool., Brno, 25 (2): 175 - 182.
- Libosvářský, J., Lusk, S., 1970. On the bionomics and nezt production of brown trout (*Salmo trutta* m. *fario* L.) in the Loučka Creek, Czechoslovakia. Ekologia, Polska, 18 (16): 361 – 382.
- Libosvářský, J., Lusk, S., 1974. Some effects of stocking on the performance of a brown trout population. Acta Sci. Nat., Brno, 8 (5): 1 – 42.
- Libosvářský, J., Lusk, S., Krčál, J., 1971. Hospodaříme na pstruhových vodách. Příručka pro rybářskou praxi. ÚVO ČSAV, Brno, 156 s.

- Libosvářský, J., Lusk, S., 1977. Spatial stability of brown trout in stream section. *Folia Zool.*, Brno, 26 (1): 61 – 78.
- Linhart, O., 1984. Hodnocení spermatu u některých lososovitých ryb. *Bulletin VÚRH Vodňany*, 20(1): 20-34.
- Linhart, O., 1996. Artificial propagation and manipulation with gametes of the European catfish (*Silurus glanis* L.). *Acta Univ. Carol.*, 40: 133-138.
- Linhart O., Pokorný J., 1984. Hodnocení čerstvého spermatu ryb. *Metodika VÚRH*, 14: 13 s.
- Linhart, O., Rodina, M., Bastl, J., Cosson J., 2003. Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (*Tinca tinca* L.). *Journal of Appl. Ichtyol.*, 19: 177-181.
- Lobon-Cervia, J., Utrilla, C. G., Rincón, P. A., Amezcua, F., 1997. Environmentally induced spatio-temporal variations in the fecundity of brown trout *Salmo trutta* L.: Trade-offs between egg size and number. *Freshwater Biol.*, 38: 277 - 288.
- Luczynski, M., Zaporowski, R. R., Golonka, J. S., 1986. Rearing of European grayling, *Thymallus thymallus* L., larvae using dry and live food. *Aquaculture and Fisheries Management*, 17: 275 - 280.
- Lusk S., 1968a. Sexual maturity, sex ratio and fecundity in the brown trout, *Salmo trutta m. fario* L., in the Loučka River. *Folia Zool.*, Brno, 17: 253 -268.
- Lusk S., 1968b. Egg and milt production in the brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) in the Loučka Creek. *Folia Zool.*, Brno, 17: 363 - 378.
- Lusk., S., 1979a. Ten years' changes in the salmonid fish stock in a reach of the Loučka stream. *Folia Zool.*, Brno, 28 (1): 71 – 84.
- Lusk., S., 1979b. Rocky chutes and the fish stock of streams. *Acta Sci. Nat.*, Brno, 13 (12): 1 - 26.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J., 1983. *Ryby v našich vodách*. Academia, Praha, 212 s.
- Lusk, S., Skácel, L., 1978. *Lipeň*. Vyd. Příroda, Bratislava, 180 s.
- Lusk, S., Skácel, L., Sláma, B., 1987. *Lipán podhorní*. Český rybářský svaz, Praha, 155 s.
- Lusk, S., 1989. Umělé rozmnožování a odchov násad pstruha obecného a lipana podhorního. In: Berka, R.: *Chov lososovitých ryb (sborník referátů z konference)*, ČSVTS při VÚRH a SRŠ, Vodňany: 115 - 119.
- Lusk, S., Lusková, V., Halačka, K., Smutný, M., 2003. Anglers' catches as an indicator of fish population status. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 3 (1): 113 -119.
- Lusk, S., Lusková, V., Halačka, K., 2005. Zamyšlení nad příčinami trvalého poklesu úlovků pstruha obecného a lipana podhorního. Ve: Vykusová B. (ed.): *Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře)*, Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU, Vodňany, v tisku
- Lusková, V., Korunová, V., Halačka, K., Lusk, S., 1997. Rtut' ve tkáních pstruha obecného v podélném profilu Tiché Orlice. In: Vykusová, B., Svobodová, Z., Kolářová, J. (red.): *Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí*. VÚRH, Vodňany, *Aquachemie Ostrava*: 346 – 352.
- Lye, C. M., Frid, L. J., Gill, M. E., Cooper, D. W., Jones, D. M., 1999. Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the UK Tyne and Tees estuaries. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 1009 – 1014.
- Maitland, P. S., Campbell, R. N., 1992. *Freshwater Fishes of the British Isles*. London: Harper Collins, *The New Naturalist*, 368 p.
- Mareš, J., Habán, V., 2003. Dopad nepřiměřeného výskytu vydry a kormorána na hospodaření na revírech MRS. In: *Sbor. referátů odbor. semináře „Rybářství a predátoři“*. ČRS, Praha : 36 - 40.
- Mason, J. W., Brynildson, O. M., Degurse, P. E., 1967. Comparative survival of wild and domestic strains of brook trout in streams. *T. Am. Fish. Soc.*, 96: 313 - 319.

- McFadden, J. T., Cooper, E. L., Andersen, J. K., 1965. Some effects of environment on egg production in brown trout (*Salmo trutta*). *Limnol. Oceanogr.*, 10: 88 - 95.
- McLean, J. E., Bentzen, P., Quinn, T. P., 2003. Differential reproductive success of sympatric, naturally spawning hatchery and wild steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) through the adult stage. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 60: 433 - 440.
- McMahon, T. E., Dalbey, S. R., Ireland, S. C., Magee, J. P., Byorth, P. A., 1996. Field evaluation of visible implant tag retention by brook trout, cutthroat trout, rainbow trout, and arctic grayling. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 16: 921 - 992.
- McMichael, G. A., Sharpe, C. S., Pearsons, T. N., 1997. Effects of residual hatchery-reared steelhead on growth of wild rainbow trout and spring chinook salmon. *T. Am. Fish. Soc.*, 126: 230 - 239.
- McMichael, G.A., Pearsons, T.N., Leider, S.A., 1999. Behavioral interactions among hatchery-reared steelhead smolts and wild *Oncorhynchus mykiss* in natural Streams. *Vorth. American Journal of Fisheries Management*, 19: 948 - 956.
- McNeil, W., 1991. Expansion of cultured Pacific salmon into marine ecosystems. *Aquaculture*, 98: 173 - 183.
- Mesa, M. G., 1991. Variation in feeding, aggression and position choice between hatchery and wild cutthroat trout in an artificial stream. *T. Am. Fish. Soc.*, 120: 723 - 727.
- Metcalf, N. B., Thorpe, J. E., 1992. Early predictors of life-history events: the link between first feeding date, dominance and seaward migration in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *J. Fish Biol.*, 41: 93 - 99.
- Metcalf, N. B., Taylor, A. C., Thorpe, J. E., 1995. Metabolic rate, social status and life-history strategies in Atlantic salmon. *Anim. Behav.*, 49: 431 - 436.
- Metcalf, N. B., Valdimarsson, S. K., Morgan, I. J., 2003. The relative roles of domestication, rearing environment, prior residence and body size in deciding territorial contests between hatchery and wild juvenile salmon. *J. Appl. Ecol.*, 40: 535 - 544.
- Meyers, S. L., Thuemler, F. T., Kornely, G. W., 1992. Seasonal movements of brown trout in Northeast Wisconsin. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 12: 433 - 441.
- Migaud, H., Gardeur, J. N., Fordoxcel, L., Fontain, P., Brun-Bellut, J., 2001. Influence of the spawning time during the reproduction period on the larval quality of euroasian perch, *Perca fluviatilis*. European Aquaculture Society, Special Publication No. 30, Ostende, Belgium.
- Miller, R. B., 1953. Comparative survival of wild and hatchery-reared cutthroat trout in a stream. *T. Am. Fish. Soc.*, 83: 120 - 130.
- Miller, R. B., 1958. The role of competition in the mortality of hatchery trout. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 15: 27 - 45.
- Minns, C.K., 1995. Allometry of home-range size in lake and river fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52 (7): 1499 - 1508.
- Moffitt, C. M., Stewart, B. C., LaPatra, S. E., Brunson, R. D., Bartholomew, J. L., Peterson, J. E., Amos, K. H., 1998. Pathogens and diseases of fish in aquatic ecosystems: implications for fisheries and management. *J. Aquat. Anim. Health*, 10: 95 - 100.
- Moran, P., Pendas, A. M., Garzia-Vazquez, E., Izquierdo, J. T., Rutherford, D. T., 1994. Electrophoretic assessment of the contribution of transplanted Scottish Atlantic salmon (*Salmo salar*) to the Esva river (Northern Spain). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51: 248 - 252.
- Mork, O. I., Bjerkgeng, B., Rye, M., 1999. Aggressive interactions in pure and mixed groups of juvenile farmed and hatchery-reared wild Atlantic salmon *Salmo salar* L. in relation to tank substrate. *Aquac. Res.*, 30: 571 - 578.
- Moskal'kova, K. I., 1978. Razvitie azovskogo bychka kruglyaka *Neogobius melanostomus* (Pallas) v svyazi s osobennostyami uslovii ego suhchestvovaniya v individual'nom i

- istorickom rozvitii. In: Koshelev, B. V. (ed.), Ekologo-morfologicheskie i ekologo-fiziologicheskie issledovaniya razvitia ryb. Nauka Press Moscow: 72 - 88.
- Mounib, M. S., 1978. Cryogenic preservation of fish and mammalian spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 53: 13 - 18.
- Mourning, T.E., Fausch, K.D., Gowan, C., 1994. Comparison of visible implant tags and Floy anchor tags on hatchery rainbow trout. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 14: 636 - 642.
- Mousseau, T. A., Fox, C. V., 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Trends Ecol. Evol.*, 13: 403 - 407.
- Naeslund, I., 1990. Survival, dispersal and growth in 0+ pond-reared brown trout (*Salmo trutta* L.) released in a northern Swedish stream. *Inf. Soetvattenslab. Drottningholm*: 1 - 15.
- Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU, Brno, 155 s.
- Nicholls, A. G., 1985. The population of a trout stream and the survival of released fish. *Mar. Freshw. Res.*, 9: 319 - 350.
- Nickelson, T. E., Solazzi, M. F., Johnson, S. L., 1986. Use of hatchery coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) presmolts to rebuild wild populations in Oregon coastal streams. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 2443 - 2449.
- Nieslanik, J., 1957. Dozrávání lososovitých ryb. *Čs. Rybářství*, 2: 20 - 21.
- Nieslanik, J., 1963. Lipan podhorní. *Čs. Rybářství*, 8: 112.
- Nieslanik, M., 2005. Uplatnění odkrmených násad pstruha obecného v odchovných potocích. Ve: Vykusová B. (ed.): Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře), Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU, Vodňany, v tisku
- Niva, T., 1995. Retention of visible implant tags by juvenile brown trout. *J. Fish Biol.*, 46: 997 - 1000.
- Northcote T.G., 1984. Mechanisms of fish migration in rivers. In: Mechanisms of migration in fishes, McCleave, J.D. *et al.* (eds.): Plenum Publishing Corporation: 317 - 355.
- Northcote, T.G., 1995. Comparative biology and management of Arctic and European grayling (Salmonidae, *Thymallus*). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 5: 141 - 194.
- O'Grady, M. F., 1983. Observations on the dietary habits of wild and stocked trout in Irish Lakes. *J. Fish Biol.*, 22: 593 - 601.
- Ojanguren, A.F., Reyes-Gavilan F.G., Brana F., 1996. Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture*, 147: 9 - 20.
- Ovidio, M., Parkinson, D., Sonny, D., Philippart, J.C., 2004. Spawning movements of European grayling *Thymallus thymallus* in the river Aisne (Belgium). *Folia Zool.*, 53 (1): 87 - 98.
- Pavlik, L., 2000. Historie a vlastní zkušenosti s chovem lipana v rybářské praxi. *Bulletin VÚRH, Vodňany*, (4): 107 - 109.
- Pavlov, D. A., 1989. Lososevye (Biologija razvitija i vosproizvodstvo). *Izd.-vo Moskovskogo Universiteta, Moskva*, 216 p.
- Pavlov, D. S., 1999. Features of transition from larva to juvenile in fishes with different type of early ontogeny. *Environ. Biol. Fish.*, 56 (1-2): 41 - 52.
- Pekárková, K., 1956a. Metody zjišťování počtu jiker pstruha obecného (*Salmo trutta* m. *fario* L.) a duhového (*Salmo gairdneri* Gibb.). *Zool. Listy*, 5 (4): 337 - 344.
- Pekárková, K., 1956b. Počet jiker a jejich velikost ve vztahu k velikosti samic pstruha obecného (*Salmo trutta* morpha *fario* L.) a duhového (*Salmo gairdneri irideus* Gibb.) *Univ. Carolina, Biologica*, 2 (1): 39 - 56.
- Pender D.R., Kwak, T.J., 2002. Factors influencing brown trout reproductive success in Ozark Tailwater Rivers. *T. Am. Fish. Soc.*, 131: 698-717.
- Peňáz, M., 1964. Pozorování pstruhů, *Salmo trutta* m. *fario*, při překonávání překážek. *Zool. Listy*, 13 (1): 87 - 88.

- Peňáz, M., 1965. Vliv amoniaku na jikry a plůdek pstruha obecného, *Salmo trutta m. fario*. Zool. Listy, 14 (1): 47 – 54.
- Peňáz, M., 1975. Early development of the grayling *Thymallus thymallus* (Linneus 1758). Acta scientarium, Brno, 9 (11): 1 - 35.
- Peňáz, M., 1983. Ecomorphological laws and saltation in the early ontogeny of Salmonoidei. Folia Zool., 32 (4): 365 - 373.
- Peňáz, M., 2000. Jak v klasifikaci a terminologii vývojových stadií ryb. In: Mikešová, J. (ed.), Sb. referátů ze IV. české ichtyologické konference. VÚRH JU Vodňany : 243 - 248.
- Peňáz, M., 2001. A general framework of fish ontogeny: a review of the ongoing debate. Folia Zool., 50 (4): 241 - 256.
- Peňáz, M., Příhoda, J., 1981. Reproduction and early ontogeny of *Hucho hucho*. Acta Sc. Nat., Brno, 15 (6): 1 - 33.
- Persat, H., Eppe, R., 1997. Stocking, pollution and river network partitioning in the genetic structures of fish populations: The European grayling, *Thymallus thymallus*, along the Rhone River section bordering Savoy, France. B. Fr. Peche Piscic.: 344-345, 287-299.
- Petersson, E., Järvi, T., 1993. Differences in reproductive traits between sea-ranched and wild sea-trout (*Salmo trutta*) originating from a common stock. Nordic Journal of Freshwater Research, 68: 91 - 97.
- Petersson, E., Järvi, T., Steffner, N. G., Ragnarsson, B., 1996. The effect of domestication on some life history traits of sea trout and Atlantic Salmon. J. Fish Biol., 48: 776 – 791.
- Petersson, E., Järvi, T., 2003. Growth and social interactions of wild and sea-ranched brown trout and their hybrids. J. Fish Biol., 63: 673 - 686.
- Piironen, J., Hyvärinen, H., 1983. Composition of the milt of some teleost fishes. J. Fish Biol., 22: 351 - 361.
- Pitter, P., 1999. Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT, Praha, 568 s.
- Pitman, R. W., 1979. Effects of female age and egg size on growth and mortality in rainbow trout. Progressive Fish-Culturist, 41: 202 - 204.
- Pivnička, K., Hensel, K., 1978. Morphological variation in the genus *Thymallus* Cuvier, 1829 and recognition of the species and subspecies. Acta Univ. Carolinae, Biologica, 1975 – 1976: 37 – 67.
- Podubský, V., 1958. Kolísání inkubační doby při líhnutí jiker. Živočišná Výroba, 3 (1): 69 - 76.
- Pokorný, J., 1999. Ochrana genofondu pstruha obecného f. potoční (*Salmo trutta m. fario*) populace šumavská. Revitalizace vodních ekosystémů, Srní: 35 – 37.
- Pokorný, J., 2000. Perspektivy chovu a produkce lipana v České republice. Bulletin VÚRH, Vodňany, (4): 102 – 106.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 1998. Pstruhařství. Informatorium, Praha, 242 s.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 2003. Pstruhařství. Informatorium, Praha, 281 s.
- Pokorný, J., Kouřil, J., 1999. Chov lipana a jeho umělý výtěr. Metodika č. 59, VÚRH JU, Vodňany, 18 s.
- Poole, W. R., Dillane, M. G., Whelan, K. F., 1994. Artificial reconditioning of wild sea trout, *Salmo trutta* L., as an enhancement of option: initial results on growth and spawning success. Fisheries Manag. Ecol., 1: 179 - 192.
- Poole, W. R., Dillane, M. G., 1998. Estimation of sperm concentration of wild and reconditioned brown trout, *Salmo trutta* L. Aquac. Res., 29: 439 - 445.
- Poupě, J., 1981. Note on growth of the brown trout (*Salmo trutta m. fario*). Věst. čs. Společ. zool., 45 (2): 181 – 188.



- Price, E. O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 65: 245 - 271.
- Prokeš, M., 1977. Embryonic development of reciprocal hybrids *Coregonus peled* x *C. lavaretus*. *Folia Zool.*, 26(2): 143 - 156.
- Příhoda, J., Vandlík, K., Meleky, V., Lietava, P., 1989. Odchov plodíkův pstruha potočného a lipňa v žlaboch. In: Berka, R.: Chov lososovitých ryb (sborník referátů z konference), ČSVTS při VÚRH a SRŠ Vodňany: 135 - 140.
- Reimers, N., 1963. Body condition, water temperature, and over-winter survival of hatchery-reared trout in Covict Creek, California. *T. Am. Fish. Soc.*, 92: 39 - 46.
- Rikardsen, A.H., Woodgate, M., Thompson, D.A., 2002. A comparison of floy and soft Vialpha tags on hatchery Arctic charr, with emphasis on tag retention, growth and survival. *Environ. Biol. Fish.*, 64 (1-3): 269 - 273.
- Rimkus, G. G., Butte, W., Geyer, H. J., 1997. Critical considerations on the analysis and bioaccumulation of musk xylene and other synthetic nitro musks in fish. *Chemosphere*, 35 (7): 1497 - 1507.
- Rintamaki-Kinnunen, P., Rahkonen, M., Mykra, H., Valtonen, E.T., 2005. Treatment of ichthyophthiriasis after malachite green. II. Earth ponds and salmonid farms. *Dis. Aquat. Organ.*, 66 (1): 15 - 20.
- Ruzzante, D. E., 1994. Domestication effects on aggressive and schooling behavior in fish. *Aquaculture*, 120: 1 - 24.
- Ryman, N., Stahl, G., 1980. Genetic changes in hatchery stocks of brown trout. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 82 - 87.
- Ryšavý, J., 2000. Lipan podhorní - reprodukce, odchov a chov na pstruhovém objektu u Bečova nad Teplou. *Bulletin VÚRH, Vodňany*, (4): 114 - 118.
- Říha, J., 1986. Lov ryb elektřinou. *Naše vojsko*, Praha, 185 s.
- Salonen, A., Peuhkuri, N., 2004. A short hatchery history: does it make a difference to aggressiveness in European grayling? *J. Fish Biol.*, 65: 231 - 239.
- Sanchez, M. P., Chevassus, B., Labbé, L., Quillet, E., Mambrini, M., 2001. Selection for growth of brown trout (*Salmo trutta*) affects feed intake but not feed efficiency. *Aquat. Living Resour.*, 14: 41 - 48.
- Saunders, R. L., 1991. Potential interaction between cultured and wild Atlantic salmon. *Aquaculture*, 98: 51 - 60.
- Scott, A., 1985. Distribution, growth and feeding of postemergent grayling *Thymallus thymallus*. *T. Am. Fish. Soc.*, 114: 525 - 31.
- Sedlár, J., Stráňai, I., Makara, A., 1985. Súčasný stav zarybnenia povodia Hrona V. Vek a lineárny rast produkčne rozhodujúcich druhov rýb povodia Hrona. *Polnohospodárstvo*, 31 (2): 133 - 144.
- Seeb, J. E., Seeb, L. W., Utter, F. M., 1986. Use of genetic marks to assess stock dynamics and management programs for chum salmon. *T. Am. Fish. Soc.*, 115: 448 - 454.
- Shepard, B.B., Robison-Cox, J., Ireland, S.C., White, R.G., 1996. Factors influencing retention of visible implant tags in westslope cutthroat trout inhabiting headwater streams of Montana. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 16: 913 - 920.
- Sholes, W.H., Hallock, R.J., 1979. An evaluation of rearing fall-run chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, to yearlings at Feather River hatchery, with a comparison of returns from hatchery, and downstream releases. *California Fish and game*, 64: 239 - 255.
- Schwaiger, J., Negele, R. D., 1998. Plasma vitellogenin - a blood parameter to evaluate exposure of fish to xenoestrogens. *Acta Vet.*, Brno 67: 257 - 264.

47

- Skaala, O., Jorstad, K. E., Borgstrom, R., 1996. Genetic impact on two wild brown trout (*Salmo trutta* L.) populations after release of non-indigenous hatchery spawners. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 2027 - 2035.
- Slavík O., Bartoš, L., 2004. Brown trout migration and flow variability. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 4: 129 - 135.
- Slavík O., Mašek, P., Balvín, P., Kolářová, J., Randák, T., 2004. Migrace pstruhů obecných a variabilita průtoku v pramenných oblastech řek Vydry a Vltavy. Sborník z konference Aktuality šumavského výzkumu II. CHKO Šumava: 230 - 232.
- Slavík, O., 2005. Zlepšení podmínek pro přirozený vývoj populací pstruha obecného v tekoucích vodách. Ve: Vykusová B. (ed.): Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře), Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU Vodňany, v tisku
- Smíšek, J., 1953. O plodnosti pstruha obecného. *Sb. ČSAZV, Živočišná Výroba*, 26 (1-2): 79 - 82.
- Soin, S. G., 1980. O tipech rozvitija lososevidnych ryb. *Vopr. Ichtyol.*, 20 (1): 65 - 72.
- Solomon, D. J., Templeton, R.G., 1976. Movements of brown trout in a chalk stream. *J. Fish. Biol.*, 9: 411 - 423.
- Springate, J. R. C., Bromage, R. E., 1985. Effects of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 47: 163 - 172.
- Spurný, P., 2000. Predační tlak kormorána velkého na rybí společenstva. *Rybářství*, 7: 304 - 305.
- Spurný, P., 2002. Příčiny poklesu úlovků na pstruhových vodách v posledních letech. *Rybářství*, 4: 181- 182.
- Spurný, P., 2003a. Vliv predátorů na rybí společenstva pstruhových vod. In: Sbor. referátů odbor. semináře „Rybářství a predátoři“. ČRS Praha: 41 - 47.
- Spurný, P., 2003b. Deterioration of the fish community of the salmonid Dyje River cause by overwintering cormorant (*Phalacrocorax carbo*). *Acta Scientiarum Polonorum*, 2 (1): 247 - 254.
- Sristava, R. K., Brown, J. A., 1991. The biochemical characteristics and hatching performance of cultured and wild atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs. *Can. J. Zool.*, 69 (9): 2436 - 2441.
- Steingrund, P., Fernö, A., 1997. Feeding behaviour of reared and wild cod and the affect of learning: two strategies of feeding on the two-spotted goby. *J. Fish Biol.*, 51: 334 - 348.
- Strange, C.D., Kennedy, G.J.A., 1979. Yield to anglers os spring and autumn stocked, hatchery reared and wild, brown trout (*Salmo trutta* L.). *Fish. Manag.*, 10 (2): 45 - 52.
- Straškraba, M., Čihař, J., Frank, S., Hruška, V., 1966. Contribution to the problem of food competition among the sculpin, minnow and brown trout. *J. Anim. Ecol.*, 35: 303 - 311.
- Sumpter, J.P., 1998. Xenoendocrine disrupters - environmental impacts. *Toxicol. Lett.*: 102 - 103, 337 - 342.
- Sumpter, J.P., Jobling, S., 1995: Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Persp.*, 103 (7): 173 - 178.
- Sundell, K., Dellefors, C., Björnsson, B. T., 1998. Wild and hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta*, differ in smolt related characteristics during parr-smolt transformation. *Aquaculture*, 167 (1,2): 53 - 65.
- Sundström, L. F., Lohmus, M., Johnsson, J. L., 2003. Investment in territorial defence depends on rearing environment in brown trout (*Salmo trutta*) . *Behav. Ecol. and Sociobiol.*, 54: 249 - 255.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Paláčková, J., 1986. Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Edice metodik č. 22, VÚRH Vodňany, 36 s.
- Svobodová, Z. *et al.*, 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN, Praha, 231 s.

- Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová B., Piačka V., 1996. Kovy v ekosystémech povrchových vod. Edice Metodik, č. 49, VÚRH Vodňany, 18 s.
- Svobodová, Z., Vajcová, V., Vykusová, B., Kolářová, J., Modrá, H., Groch, L., Hajšlová, J., Kocourek, V., 1999. Monitoring kontaminace řeky Tiché Orlice a jejího přítoku Kralického potoka organickými polutanty. In: Dočkal, P., Maszjarová, E. (red.): Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí., VÚRH JU Vodňany, Aquachemie Ostrava: 95 - 104.
- Svobodová Z., Čelechovská O., Máchová J., Randák T., 2002. Content of arsenic in market - ready rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Vet. Brno, 71: 361 - 367.
- Swain, D.P., Riddell, B.E., 1990. Variation in agonistic behaviour between newly emerged juveniles from hatchery and wild populations of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 47: 566 - 571.
- Šlechtová, V., Šlechta, V., Pokorný, J., 2001. Genetická charakterizace pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario*) v oblasti Šumavy. Sborník z konference Aktuality šumavského výzkumu, CHKO Šumava: 213 - 217.
- Taube, C.M., 1976. Sexual maturity and fecundity in brown trout of the Platte River, Michigan. T. Am. Fish. Soc., 105: 529 - 533.
- Thodesen, J., Grisdale-Helland, B., Helland, S. J., Gjerde, B., 1999. Feed intake, growth and feed utilisation of offspring from wild and selected Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 180: 237 - 240.
- Trippel, E. A., Castell, J. D., Neil, S. R. E., Blair, T. J., 2000. Assessment of egg quality of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in paired matings. Reproductive Physiology of Fish: 405 - 407.
- Tuček, J., 1955. O potravě pstruha obecného (*Salmo trutta morpha fario* L.) a její přístupnosti v předjarních měsících v řece Moravici. Živočišná Výroba, 28: 385 - 394.
- Tuša, I., 1968. On the feeding biology of the brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) in the Loučka Creek. Folia Zool., Brno, 17 (4): 379 - 395.
- Tuša, I., 1969. On the feeding biology of the brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) in the course of day and night. Folia Zool., Brno, 18 (3): 275 - 284.
- Tyler, C.R., Jobling, S., Sumpter, J.P. 1998. Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence. Critical review in toxicology, 28 (4): 319 -361.
- Uiblein F., Jagsch A., Honsig-Erlenburg W., Weiss S., 2001. Status, habitat use, and vulnerability of the European grayling in Austrian waters. J. Fish Biol. 59: 223 - 247.
- Unwin, M. J., Glova, G. J., 1997. Changes in life history parameters in a naturally spawning population of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) associated with releases of hatchery-reared fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 54: 1235 - 1245.
- van den Berghe, E. P., Gross, M. R., 1989. Natural selection resulting from female breeding competition in a Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*). Evolution, 43: 125 - 140.
- Verspoor, E., 1988. Reduced genetic variability in first-generation hatchery populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45: 1686 - 1690.
- Vincent, R. E., 1960. Some influences of domestication upon three stocks of brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchill). T. Am. Fish. Soc., 89: 35 - 52.
- Vostradovský, J., Ličko, B., 2005. Vývoj úlovků pstruha obecného, pstruha duhového, lipana podhorního a sivena amerického na pstruhových rybářských revírech ČRS v letech 1990 - 2003, Ve: Vykusová B. (ed.): Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře), Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU Vodňany, v tisku
- Waples, R. S., 1991. Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: lessons from the Pacific Northwest. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 48 (1):124 -133.

- Weiss, S., Schmutz, S., 1999. Performance of hatchery-reared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. T. Am. Fish. Soc., 128: 302 – 316.
- Witkowski, A., Kowalewski, M., 1988. Migration and structure of the spawning population of European grayling *Thymallus thymallus* (L.) in the Dunajec basin. Arch. Hydrobiol., 112: 279 - 97.
- Woodland, J. V., 1988. The feeding relationships of grayling and trout in the Welsh Dee. J. Grayling Soc. (Spring): 28 - 29.
- Yamagishi, T., Miyazaki, T., Horii, S., Kaneko, S., 1981. Identification of musk xylene and musk ketone in fresh-water fish collected from the Tama River, Tokyo. B. Environ. Contam. Tox., 26 (5): 656 - 662.
- Young, K.M., 1994. Mobility of brown trout in south-central Wyoming streams. Can. J. Zool., 72: 2078 – 2083.
- Young, K.M., 1996. Summer movements and habitat use by Colorado River cutthroat (*Oncorhynchus clarki pleuriticus*) in small, Montana Streams. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 53: 1403 – 1408.
- Zákon č. 286/2003 Sb. o veterinární péči
- Žil'ukas, V. Ju., Peňáz, M., Prokeš, M., 1983. The posthatching steps in the early ontogeny of *Coregonus peled*. Folia Zool., 32 (1): 85-93.

## **PŘEDLOŽENÁ PRÁCE BYLA ZPRACOVÁNA ZA FINANČNÍ PODPORY TĚCHTO PROJEKTŮ:**

- MSM126100002 “Chovatelské technologie v akvakultuře.” (výzkumný záměr VÚRH JU; 1999 - 2001)
- MSM126100001 “Biologické základy sladkovodní akvakultury.” (výzkumný záměr VÚRH JU; 1999 - 2004)
- MSM126100003 “Hodnocení interakcí mezi rizikovými faktory ve vodním prostředí a ekosystémy povrchových vod.” (výzkumný záměr VÚRH JU; 1999 - 2004)
- MSM122200003 “Interakce chemických složek v ekosystémech povrchových vod (výzkumný záměr ZF JU; 1999 - 2004)
- VaV340/1/01 Vliv chemického znečištění životního prostředí na kontaminaci a kvalitu biotických složek ekosystémů (projekt MŽP; 2001 - 2003)
- QF3028 „Vývoj nových technologií odchovu hospodářsky významných říčních druhů ryb a raků ohrožených degradací přírodního prostředí (projekt NAZV; 2003 – 2007)
- MSM6007665809 „Biologické, enviromentální a chovatelské aspekty v rybářství.“ (výzkumný záměr VÚRH JU; 2005 – 2011)

## **8. SOUHRN**

Pstruh obecný (*Salmo trutta m. fario* L.) a lipan podhorní (*Thymallus thymallus* L.) patří k dominantním a hospodářsky nejvýznamnějším druhům tzv. pstruhových vod v ČR. V současnosti však dochází v českých tocích k poklesu jejich stavů. Tento pokles je ovlivněn řadou faktorů. Mezi nejvýznamnější patří nešetrné úpravy toků, zvyšující se rybářský tlak a zvyšování účinnosti lovných způsobů, působení predátorů, antropogenní znečištění, atp. Aby nedocházelo k jejich dalšímu úbytku a případnému vymizení z některých lokalit, je nutno přijmout opatření spočívající ve větší ochraně těchto druhů a také v intenzivnějším doplňování přirozených populací kvalitními násadami. Množství produkovaných násad je však limitováno počty generačních ryb, kterých je v tocích, ze kterých jsou odlovovány pro účely umělé reprodukce, nedostatek. V důsledku nedostatku generačních ryb produkce násadového materiálu pstruha obecného a lipana podhorního nepokrývá potřeby subjektů hospodařících na volných vodách. Situace je často řešena dovozy a umělým vysazováním násadových ryb z jiných regionů či ze zahraničí. Nekontrolované vysazování násad různého původu však může negativně ovlivňovat genetické vlastnosti původních místních populací.

Hlavními cíly práce bylo odchovat populace generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních v kontrolovaných podmínkách; posoudit vliv podmínek umělého chovu generačních ryb na kvalitu pohlavních produktů, plůdku a adaptabilitu potomstva těchto ryb v prostředí volných vod; v případě lipana podhorního vyvinout a otestovat alternativní postupy a technologie vedoucí ke zvýšení počtu uměle vytíraných jedinců, ke zlepšení průběhu ovulace a ke snížení povýťerové mortality generačních ryb; studovat vliv kontaminace vodního prostředí na snížení úspěšnosti přirozené reprodukce lososovitých ryb a na základě získaných výsledků navrhnout opatření umožňující zvýšení produkce kvalitních a adaptabilních násad cílových druhů pro zarybňování volných vod. Pro zachování vnitrodruhové diverzity je nutné v rámci jednotlivých regionů pracovat s místními (pokud možno původními) populacemi. Právě využití místních populací pstruha obecného a lipana podhorního bylo základem této práce. V roce 1999 byl na líhni MO ČRS Husinec zahájen program umělého odchovu generačních pstruhů obecných a lipanů podhorních za účelem zvýšení produkce násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Část potomstva pocházejících z umělých výtěrů (1999 – pstruh obecný; 2000 – lipan podhorní) generačních ryb volně žijících v řece Blanici byla odchovávána v podmínkách umělého chovu až do stadia generačních ryb (2002). Bohužel v průběhu povodní v roce 2002 došlo ke ztrátě chované populace lipana podhorního. V letech 2002, 2003 a 2004 byly tříletí, čtyřletí a pětiletí uměle

odchovaní pstruzi obecní uměle vytírání, přičemž byly zjišťovány a s původní divokou populací porovnávány reprodukční parametry, byla hodnocena biologická kvalita jiker, provedeny morfologické analýzy plůdku, byla testována adaptabilita potomstva uměle chovaných generačních ryb v přirozených podmínkách a provedeny genetické analýzy hodnotící možnost vzniku genetických změn v důsledku působení podmínek umělého chovu.

Na základě porovnání s referenční (původní rodičovskou) volně žijící populací bylo možno konstatovat, že podmínky umělého chovu významným způsobem u 1. generace odchovaných generačních pstruhů obecných neovlivnily většinu sledovaných reprodukčních ukazatelů. Uměle chované ryby vykazovaly obdobné reprodukční cykly jako ryby volně žijící. U potomstva chovaných ryb nebyly v případě ontogenetického vývoje a genetických markerů zjištěny významné rozdíly v porovnání s potomstvem volně žijících ryb. Na základě porovnání s násadami odchovanými v přírodních podmínkách, popř. s jedinci pocházejícími přímo z přirozeného výtěru v experimentálním toku lze usuzovat na velice dobrou adaptabilitu uměle odchovaných násad pstruha obecného a lipana podhorního v podmínkách volných vod. V rámci dalších experimentálních prací byl prokázán pozitivní vliv hormonálních preparátů na zvýšení počtu ovulujících samic lipana podhorního. Obdobný efekt byl však docílen i použitím anestetika bezprostředně před umělým výtěrem. Byla prokázána vysoká povýtěrova mortalita generačních ryb, které byly po výtěru umístěny v rybničním prostředí. Vysoká efektivita (relativně nízká mortalita generačních ryb, velmi dobrá kvalita jiker) byla prokázána u systému, kdy byli generační ryby odlovovány z přírodního toku v podzimním období, přes zimní období byly přechovávány v rybničním prostředí, na jaře uměle vytírány a po umělém výtěru vysazovány zpět do přírodního toku. Při umělých výtěrech byla využívána anestetika, byla intramuskulárně aplikována antibiotika a prováděny desinfekční koupele. Dále bylo prokázáno, že průmyslové, ale i běžné komunální znečištění může v lokalitách, ve kterých nedochází k výraznému naředění odpadních vod, významně ovlivňovat hormonální soustavy ryb a tedy potenciálně ovlivňovat úspěšnost reprodukce. Takto ovlivněné úseky toků nelze doporučit jako zdroje generačních ryb pro umělé rozmnožování.

Výsledky práce naznačují, že pomocí racionálnějšího využívání přírodních zdrojů v kombinaci s prvky intenzivní akvakultury lze významně zvýšit produkci kvalitního násadového materiálu pstruha obecného a lipana podhorního, který si zachovává vlastnosti původních volně žijících populací.

## **9. SUMMARY**

Brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) and grayling (*Thymallus thymallus* L.) belong to dominating and commercially most important species in trout waters of the Czech Republic. However, their populations are currently decreasing in Czech streams and this decrease is affected by several factors. Among the most important factors, there are unconsiderate adjustments of streams, increasing angling pressure and increasing effectiveness of angling styles, effects of predators, anthropogenic pollution, etc. In order to prevent further losses of these species and to prevent their appropriate disappearance from some localities, it is necessary to accept measures based on greater conservation of these species and also on more intensive restocking the natural populations with good quality stockfish. The number of stockfish produced is limited by numbers of spawners which are insufficient in streams, from which they are caught for the needs of artificial reproduction. Due to these insufficient numbers of spawners, production of stocking material of brown trout and grayling does not cover the needs of subjects managing the open waters. This situation is often solved by imports and artificial restocking with stockfish from other regions or from abroad. Uncontrolled stocking of fish of various origin may affect negatively the genetic characteristics of the original local populations.

Main goals of this thesis were to breed populations of brown trout and grayling spawners under controlled conditions; to assess the effect of conditions of spawner breeding on the quality of gametes and fry, as well as the adaptability of the progeny in open waters; in case of grayling to develop and test alternative approaches and technologies to enhance the number of artificially propagated fish, to improve the course of ovulation and to decrease post-spawning mortality of spawners; to study the effect of contamination of the aquatic environment on decreased success of natural reproduction of salmonids and, upon the results gained, to propose measures enabling to enhance the production of good quality and adaptable stockfish of the target species for restocking the open waters. In order to maintain the intraspecific diversity, it is necessary to work with local and, if possible, original populations within the individual regions. This thesis was based exactly on utilization of local populations of both the brown trout and grayling. Programme of farming the spawners of brown trout and grayling was established at the hatchery of Husinec local unit of Czech Anglers' Union in 1999 in order to enhance the production of stocking material for restocking the open waters. Part of the progeny originating from artificial propagation of spawners living in Blanice river (brown trout 1999; grayling 2000) was farmed under artificial conditions till

the broodstock stage (2002). Unfortunately, the farmed population of grayling was lost during floods in 2002. The three-, four- and five-year old farmed brown trout were artificially propagated in 2002, 2003 and 2004, their reproductive characteristics was registered and compared to that of the original wild population, biological quality of eggs was assessed, morphological analyses of fry were carried out, adaptability of progeny of the farmed broodstock was tested under natural conditions and genetic analyses were carried out to assess possibilities of genetic changes due to farming conditions.

It could be stated upon comparison with the reference (original parental) wild population that the farming conditions did not significantly affect the reproductive traits studied in the first generation of farmed brown trout broodstock. The farmed fish exhibited the same reproductive cycles as the wild fish. Progeny of the farmed fish was not found to differ from that of wild fish, concerning their ontogenic development and genetic markers. Based upon comparison with stockfish grown under natural conditions or with individuals originating directly from natural propagation in an experimental stream, there was a very good adaptability of farmed stockfish of brown trout and grayling in open waters. Further experimental work proved a positive effect of hormonal preparations on enhanced number of ovulating females of grayling. Similar effect was achieved using anaesthetics immediately before artificial propagation. There was a high mortality of spawners placed into pond environment after artificial propagation. High effectiveness (relatively low mortality of spawners, very good quality of eggs) was proven for a system when the spawners were caught from a natural stream in autumn, overwintered in a pond, artificially propagated in spring and then restocked to the stream again. Anaesthetics were used during the artificial propagation, antibiotics were applied intramuscularly and disinfection baths were provided. Furthermore, it was proven that both the industrial- and ordinary communal pollution may significantly affect hormonal systems of fish and thus potentially affect the reproductive success in localities where communal wastes are not markedly thinned. Such affected parts of streams cannot be recommended as a source of spawners for artificial propagation.

Results of this thesis indicate that production of good quality stockfish of brown trout and grayling which maintain the characteristic of original wild populations can be remarkably enhanced by means of more purposeful utilization of natural resources in combination with components of intensive aquaculture.



## **10. PŘEHLED PUBLIKACÍ**

### **10.1 PUBLIKACE VZTAHUJÍCÍ SE K TÉMATU PRÁCE**

#### **Lektorované odborné časopisy**

- Kolářová, J., Svobodová, Z., Žlábek, V., Randák, T., Hajšlová, J., Suchan, P., 2005. Organochlorine and PAHs in brown trout (*Salmo trutta fario*) population from Tichá Orlice River due to chemical plant with possible effects to vitellogenin expression. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14 (12): 1091 – 1096. (v příloze)
- Randák, T., Kocour, M., Žlábek, V., Jarkovský, J. Effect of culture conditions on reproductive traits of brown trout *Salmo trutta*. *Folia Zoologica Brno* – odesláno do redakce. (v příloze)
- Svobodová, Z., Čelechovská, O., Kolářová, J., Randák, T., Žlábek, V., 2004. Assessment of contamination by metals in the upper reaches of the Tichá Orlice River. *Czech J. Anim. Sci.* 49 (10): 458 – 464. (v příloze)

#### **Nelektorované odborné časopisy**

- Randák, T., 2002. Vliv vybraných preparátů indukujících ovulaci na průběh výtěru generačních lipanů podhorních (*Thymallus thymallus* L.) a jejich mortalitu v povýtěrovém období. *Bulletin VÚRH Vodňany*, 38 (4): 168 – 174.
- Randák, T., Pokorný, J., Sedlecký, V., Sucharda, M., 2000. Synchronizace ovulace u lipana podhorního (*Thymallus thymallus* L.) v podmínkách MO ČRS Husinec. *Bul. VÚRH Vodňany*, 36 (4): 119 – 125.

#### **Národní konference a semináře**

- Křížek, J., Dubský, K., Randák, T., 2004. Ichtyologický průzkum řeky Blanice, pramenící v CHKO Šumava. *Sborník referátů ze VII. České ichtyologické konference, VÚRH JU Vodňany*: 11 - 15.
- Prokeš, M., Randák, T., Peňáz, M., Baruš, V., Žlábek, V., 2004. Vývoj pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.) po vylíhnutí: Srovnávací analýza vlivu rodičů původem z přirozeného a umělého prostředí. *Sborník referátů ze VII. České ichtyologické konference, VÚRH JU Vodňany*: 219 – 223.
- Randák, T., 2002. Uplatnění uměle odchovávaných násad pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario*) a lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách volných vod.. *Sborník referátů V. České ichtyologické konference, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno*: 139-145.
- Randák, T., 2002. Způsoby počátečního odkrmu plůdku pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario*). *Sborník referátů z odborné konference Produkce násadového materiálu ryb a raků, VÚRH JU Vodňany*: 34-39.
- Randák, T., 2003 *Produkce násad pstruha obecného (Salmo trutta m. fario L.) a lipana podhorního (Thymallus thymallus L.) v kontrolovaných podmínkách a jejich uplatnění ve volných vodách. Ve: Mareš, J. (ed.): Produkce násadového materiálu pro pstruhové revíry (sborník příspěvků z odborného semináře), MRS a MZLU Brno, v tisku*

- Randák, T., Pokorný, J., 2001. Základní morfologické a reprodukční ukazatele pstruha obecného f. potoční (*Salmo trutta m. fario*) z řeky Blanice Vodňanská. Sborník z konference Aktuality šumavského výzkumu, Správa NP a CHKO Šumava, Vimperk: 206 – 209.
- Randák, T., Piačková, V., Kolářová, J., 2005. Zdravotní problematika v chovech pstruha obecného. Ve: Vykusová B. (ed.): Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře), Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU Vodňany, v tisku
- Randák, T., Žlábek, V., 2004. Porovnání reprodukčních ukazatelů uměle odchovaných a přirozených populací pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.). Sborník referátů ze VII. České ichtyologické konference, VÚRH JU Vodňany: 111 – 114.
- Randák, T., Žlábek, V., 2004. Možnosti zvyšování produkce násad původních populací pstruha obecného (*Salmo trutta m. fario* L.) v oblasti Šumavy. Sborník z konference Aktuality šumavského výzkumu II. CHKO Šumava: 224 – 229.
- Randák, T., Žlábek, V., Prokeš, M., Šlechta, V., 2005. Intenzifikace chovu generačních pstruhů obecných (*Salmo trutta m. fario* L.) a její vliv na reprodukční parametry a kvalitu potomstva. Ve: Vykusová B. (ed.): Pstruh obecný (sborník příspěvků z odborného semináře), Pastviny, Rada ČRS a VÚRH JU Vodňany, v tisku
- Žlábek, V., Kolářová, J., Randák, T., Svobodová, Z., 2004. Monitoring zatížení řeky Blanice látkami s xenoestrogenním účinkem. Sborník z konference Aktuality šumavského výzkumu II. CHKO Šumava: 186-191.

## 10.2 OSTATNÍ VÝZNAMNÉ PUBLIKACE VZNIKLÉ V PRŮBĚHU DOKTORSKÉHO STUDIA

### Lektorované odborné časopisy

- Čelechovská, O., Svobodová, Z., Randák, T., 2005. Arsenic content in tissues of fish from the River Elbe. Acta Vet. Brno, 74 (3): 419-425.
- Maršálek, P., Svobodová, Z., Randák, T., Švehla, J., 2005. Mercury and methylmercury contamination of fish from the Skalka reservoir: A case study. Acta Vet. Brno, 74 (3): 427-434.
- Randák T., Žlábek V., Kolářová J., Svobodová Z., Hajšlová J., Široká Z., Jánská M., Pulkrabová J., Čajka T., Jarkovský J. 2005: Biomarkers Detected in Chub (*Leuciscus cephalus* L.) to Evaluate Contamination of the Elbe and Vltava Rivers, Czech Republic, Bull. Environ. Contam. Toxicol., přijato do tisku
- Svobodová, Z., Čelechovská, O., Máchová, J., Randák, T. 2002: Content of Arsenic in Market-Ready Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Vet. Brno, 71: 361-367.
- Svobodová, Z., Žlábek, V., Čelechovská, O., Randák, T., Máchová, J., Kolářová, J., Janoušková, D. 2002: Content of metals in tissues of marketable common carp and in bottom sediments of selected ponds of South and West Bohemia., Czech J. Animal. Sci., 47 (8): 339-350.
- Svobodová, Z., Žlábek, V., Randák, T., Máchová, J., Kolářová, J., Hajšlová, J., Suchan, P. 2003: Profiles of organochlorine POPs in tissues of marketable carp and in bottom sediments of selected ponds of South and West Bohemia. Acta Vet. Brno, 72: 295-309
- Svobodová, Z., Žlábek, V., Randák, T., Máchová, J., Kolářová, J., Hajšlová, J., Suchan, P., Dušek, L., Jarkovský, J., 2004. Profiles of PCBs in Tissues of Marketable Common Carp and Bottom Sediments from Selected Ponds in South and West Bohemia. Acta Vet. Brno, 73: 133 – 142

- Šíroká, Z., Krijt, J., Randák, T., Svobodová, Z., Pešková, G., Fuksa, J., Hajšlová, J., Jarkovský, J., Jánská, M., 2005. Organic Pollutant Contamination of the River Elbe as Assessed by Biochemical Markers. *Acta Vet. Brno*, 74: 293 – 303.
- Žlábek, V., Svobodová, Z., Randák, T., Valentová, O., 2005. Content of mercury in muscle of fish from the Elbe River and its tributaries. *Czech J. Anim. Sci.*, 50 (11): 528 – 534.

### **Mezinárodní konference**

- Randák, T., Žlábek, V., Kolářová, J., Svobodová, Z., Hajšlová, J., Šíroká, Z., 2004. Contamination assessment of Elbe river and its tributaries by means of biomarker detection and chemical analyses in chub (*Leuciscus cephalus* L.). Abstracts of the 10<sup>th</sup> International Congress of Toxicology ICTX 2004, Toxicology and Applied Pharmacology, 197 (3): 188
- Randák, T., Žlábek, V., Kolářová, J., Šíroká, Z., Svobodová, Z., Pulkrabová, J., Tomaniová, M., 2005. Influence of the main pollution sources of Czech part of the Elbe River on the fish. Book of Abstracts, 12th International Conference Diseases of Fish and Shellfish 2005, Copenhagen, Denmark: 46
- Šíroká, Z., Krijt, J., Randák, T., Svobodová, Z., 2004. Cytochrome P450 induction in fish as a biochemical marker of Labe river contamination. Abstracts of the 10<sup>th</sup> International Congress of Toxicology ICTX 2004, Toxicology and Applied Pharmacology, 197 (3): 189
- Žlábek, V., Kolářová, J., Randák, T., Svobodová, Z. 2003: Suitability of using the chub (*Leuciscus cephalus*) as a bioindicator of surface water pollution of xenoestrogenic chemicals. Abstracts of the 41<sup>st</sup> Congress of the European Societies of Toxicology EUROTOX 2003, Toxicology Letters, 144(supplement 1):181
- Žlábek, V., Randák, T., Kolářová, J., Svobodová, Z., Hajšlová, J., Suchan, P. 2004: Monitoring of endocrine disruption in chub (*Leuciscus cephalus*) from the Vltava River. Abstracts of the 10<sup>th</sup> International Congress of Toxicology ICTX 2004, Toxicology and Applied Pharmacology, 197 (3): 191

## **11. STANOVENÍ SCI**

Do konce roku 2005 byly citovány 4 práce, na kterých se autor podílel:

**Svobodová, Z., Žlábek, V., Randák, T., Máchová, J., Kolářová, J., Hajšlová, J., Suchan, P., 2003. Profiles of organochlorine POPs in tissues of marketable carp and in bottom sediments of selected ponds of South and West Bohemia. Acta Vet. Brno, 72: 295-309**

*Marsalek, P., Weiss, V., Kolejka, J., 2004. Chlorinated hydrocarbon residues in fish from Nove Mlyny reservoirs along Dyje river, Czech republic. Acta Vet. Brno, 73 (2): 275-281.*

**Svobodova Z, Zlabek V, Randak T, Machova J, Kolarova J, Hajslova J, Suchan P, Dusek L, Jarkovsky J., 2004. Profiles of PCBs in tissues of marketable common carp and bottom sediments from selected ponds in South and West Bohemia , Acta Vet. Brno, 73 (1): 133-142**

*Marsalek, P., Weiss, V., Kolejka, J., 2004. Chlorinated hydrocarbon residues in fish from Nove Mlyny reservoirs along Dyje river, Czech republic, Acta Vet. Brno, 73 (2): 275-281*

**Svobodova Z, Zlabek V, Celechovska O, Randak T, Machova J, Kolarova J, Janouskova D., 2002. Content of metals in tissues of marketable common carp and in bottom sediments of selected ponds of South and West Bohemia. Czech J. Anim. Sci., 47 (8): 339-350**

*Karadede, H., Oymak, S.A., Unlu, E., 2004. Heavy metals in mullet, Liza abu, and catfish, Silurus triostegus, from the Ataturk Dam Lake (Euphrates), Turkey. ENVIRONMENT INTERNATIONAL 30 (2): 183-188.*

**Svobodova Z, Celechovska O, Machova J, Randak T., 2002. Content of arsenic in market-ready rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Acta Vet. Brno, 71 (3): 361-367**

*Taylor, A., Branch, S., Halls, D., et al., 2004. Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages JOURNAL OF ANALYTICAL ATOMIC SPECTROMETRY 19 (4): 505-556.*



Environmental  
Bulletin

## Příloha

**FEB**



**Fresenius  
Environmental  
Bulletin**

**ORGANOCHLORINE AND PAHS IN BROWN TROUT (*Salmo trutta fario*) POPULATION FROM TICHÁ ORLICE RIVER DUE TO CHEMICAL PLANT WITH POSSIBLE EFFECTS TO VITELLOGENIN EXPRESSION**

Jitka Kolarova - Zdenka Svobodova - Vladimir Zlabek - Tomas Randak - Jana Hajslova - Petr Suchan



Angerstr. 12  
85354 Freising - Germany  
Phone: ++49 - (0) 8161-48420  
Fax: ++49 - (0) 8161-484248  
Email: [parlar@psp-parlar.de](mailto:parlar@psp-parlar.de)  
[www.psp-parlar.de](http://www.psp-parlar.de)

# ORGANOCHLORINE AND PAHS IN BROWN TROUT (*Salmo trutta fario*) POPULATION FROM TICHÁ ORLICE RIVER DUE TO CHEMICAL PLANT WITH POSSIBLE EFFECTS TO VITELLOGENIN EXPRESSION

Jitka Kolarova<sup>1</sup>, Zdenka Svobodova<sup>1,2</sup>, Vladimir Zlabek<sup>1,3</sup>, Tomas Randak<sup>1</sup>, Jana Hajslova<sup>4</sup> and Petr Suchan<sup>4</sup>

<sup>1</sup> University of South Bohemia České Budějovice, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, Czech Republic

<sup>2</sup> Veterinary and Pharmaceutical University, Brno, Czech Republic

<sup>3</sup> University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic

<sup>4</sup> Institute of Chemical Technology, Dept. of Food Chemistry and Analysis, Prague, Czech Republic

## SUMMARY

The goal of this study was to determine the primary cause of reproductive disturbances in salmonids from the Tichá Orlice river. Three sites at the Tichá Orlice river were monitored during 2000-2003.

Samples of fish muscle, bile and bottom sediment were collected on monitored sites for chemical analyses of PCB, HCB, DDT and its metabolites, HCH, OCS, 1-OHPY (bile) and PAH (bottom sediment) concentrations. Vitellogenin (Vtg) concentration in brown trout (*Salmo trutta fario*) blood plasma was assessed using ELISA (Rainbow trout vitellogenin EIA kit). In comparison with the control site, locality at the source of pollution and on another locality downstream were found considerably polluted. This contamination was manifested also by repetitious findings of high Vtg concentrations in blood plasma, resulting in adverse effects on fish reproduction.

**KEYWORDS:** vitellogenin, males, PCB, HCB, chlorinated pesticides, OCS, 1-OHPY, PAH.

## INTRODUCTION

River Tichá Orlice is a sinistral tributary of the Elbe river. The broodstock of brown trout and the grayling from the headwater area of this river and its tributary Kralický brook was used for artificial reproduction. At the beginning of the 1990's, low effectiveness of spawning appeared, the results of reproduction were not satisfactory and high losses of spawners were noticed.

Monitoring of Tichá Orlice river contamination was carried out for the first time in 1989 [1]. The content of organic pollutants (PCB, DDT and its metabolites, HCB, HCH isomers) was measured in muscle of brown trout (*Salmo trutta fario*) at down stream localities. Elevated concentrations of PCB were noticed in Tichá Orlice river compared to findings of pollutant levels common in fish from other rivers of the Czech Republic.

The next monitoring was proceeded during 1993-1998, particularly upstream localities of Tichá Orlice river and on its tributary Kralický brook [2, 3]. Lusková et al. [1] pointed out the „Tesla Králíky“ company as the primary source of mercury contamination of brown trout. The company has produced electronics and was located on Kralický brook (production technology included use of mercury). Moreover, the results of long-term monitoring of Tichá Orlice river [3] proved, that Kralický brook was a significant source of organic pollutants (PCB, PAH, OCS, DDT and its metabolites, HCB, HCH).

The above-mentioned results of chemical monitoring of Tichá Orlice river are highly important, but they do not provide evidence for the complex effect of contamination on the physiological condition of fish. A significant biochemical marker, vitellogenin, was chosen to determine negative effects of pollution on the reproductive ability of fish. Vitellogenin is a biochemical marker of surface water contamination of chemicals with estrogenic effects [4]. Vitellogenin is a lipoglycophosphoprotein synthesized in the liver of mature female under the influence of steroid hormone estradiol. Afterwards, the synthesis of vitellogenin starts also in the liver of males, if estrogen-like chemicals occur in aquatic environment. It can lead to degenerative alterations of gonads and disturbances of reproduction [5].

Presence of vitellogenin in the blood plasma of males consequently indicates the occurrence of chemicals that can mimic the effect of estrogens in aquatic environment [6, 7].

Many field studies were performed till present, using determination of vitellogenin in male blood plasma for assessment of xenoestrogenic contamination [8-12].

The aim of this study was to define the pollution of Tichá Orlice river and its disrupting consequences to fish reproduction.

## MATERIALS AND METHODS

Samples of brown trout (*S. trutta fario*) male blood plasma, bile, muscle and samples of sediment were collected at respective sampling sites (see Fig. 1) from 2000 to 2003. Sampling was done in June every year. Sampling sites Lichkov, Kralický brook and Červená Voda are located at 93<sup>rd</sup> km, 100<sup>th</sup> and 103<sup>rd</sup> km of Tichá Orlice river, respectively. Samples of fish tissues were stored deep frozen at -18°C until analysis (not more than 1 month).

Fish have been sampled at the particular locality since introduction into the river (half year old) until sampling age of 2-3 years. The main characteristics of fish species examined within this study are summarized in Table 1.

Muscle samples of brown trout were analyzed for the content of 7 indicator PCB congeners (IUPAC NOs. 28, 52, 101, 118, 138, 153 and 180), HCB, DDT and its me-

tabolites, HCH and OCS. Homogenized samples were desiccated by anhydrous sodium sulphate and the flowing powder was extracted by 340 ml hexane – dichloromethane solvent mixture (1 : 1, v/v) in a Soxhlet apparatus for 8 h (7 cycles/h). Removing of co-extracted lipids from crude extract was accomplished by gel permeation chromatography (GPC) employing BioBeads SX-3 and chloroform as a mobile phase. After solvent evaporation from the respective GPC fractions and dissolving the residue in iso-octane, quantification of target analytes was carried out by high resolution two-dimensional gas chromatography (two capillaries operated in parallel: DB-5 and DB-17, 60m x 0.25 mm (i.d.) x 0.25 mm (both) employing two electron capture detectors (HRGC/2xECD). Splitless injection technique was used (1 µl injected).

Quantitation of target compounds was performed by multi-level calibration. Limits of quantification (LOQ - mg/kg lipids) for fish are: PCB 28 – 0.5, PCB 52 – 0.6, PCB 101 – 1.0, PCB 118 – 0.6, PCB 138 – 1.0, PCB 153 – 0.6, PCB 180 – 0.7, HCB-0.2, a-HCH – 0.4, b-HCH – 0.7, g-HCH – 0.4, o,p'-DDE – 0.5, p,p'-DDE – 0.5, o,p'-DDD – 0.8, p,p'-DDD – 1.0, o,p'-DDT – 0.7, p,p'-DDT – 0.9. Limits of quantitation (LOQ mg/kg dry weight) for sediment are: PCB 28 – 1.2, PCB 52 – 1.4, PCB 101 – 1.6, PCB 118 – 2.4, PCB 138 – 1.5, PCB 153 – 1.7, PCB 180 – 1.8, HCB – 0.2, a-HCH – 0.2, b-HCH – 0.3, g-HCH – 0.2, o,p'-DDE – 0.5, p,p'-DDE – 0.3, o,p'-DDD – 0.6, p,p'-DDD – 0.6, o,p'-DDT – 0.6, p,p'-DDT – 1.7.

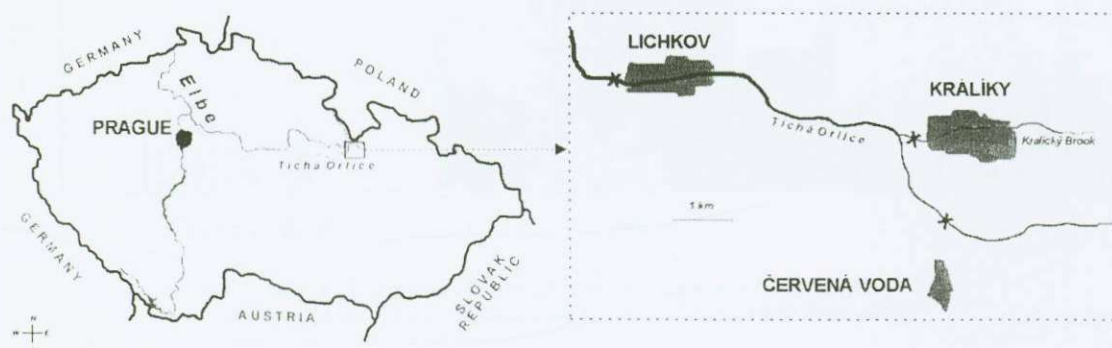


FIGURE 1 - Map of Czech Republic and location of sampling sites within presented study.

TABLE 1 - The main characteristics of sampled brown trout males (*S. trutta fario*) population (n = number of fish examined).

Locality	2000		2001		2002		2003	
	Weight (g)	Age (years)	Weight (g)	Age (years)	Weight (g)	Age (years)	Weight (g)	Age (years)
	mean±SD (n)	mean	mean±SD (n)	mean	mean±SD (n)	mean	Mean±SD (n)	mean
Červená Voda	101±21 (6)	2,5	106±29 (8)	2,4	126±39 (5)	3,0	91±12 (7)	2,1
Kralický	126±20 (7)	2,7	147±25 (10)	3,2	208±128 (5)	3,0	118±66 (7)	2,4
Lichkov	139±46 (3)	2,8	142±20 (9)	3,0	149±40 (5)	2,6	119±43 (6)	2,5



The method used for samples analysis is accredited according to ISO/IEC 17025, the results are traceable to respective certified reference materials (CRM) and proficiency testing scheme FAPAS (CSL, York, UK) There was exactly analysed metabolites of DDT: o,p'-DDE; p,p'-DDE; o,p'-DDD; p,p'-DDD, o,p'-DDT; p,p'-DDT.

Blood sampling (from *v. caudalis*), centrifugation and deep freezing of blood plasma were performed *in situ* on monitored sites. Vitellogenin concentration in fish blood plasma was assessed using ELISA - Rainbow trout vitellogenin EIA kit (Biosense Laboratories, Norway).

Bile samples were transferred from gall bladders to test tubes, frozen *in situ* and stored at -18 °C until analysed. Individual samples of bile were analysed by reverse-phase HPLC with fluorescence detection after a release of 1-hydroxypyrene (1-OHPY) from conjugates by enzymatic hydrolysis [13]. Sediments originating from the same localities as fish bile were frozen and stored in plastic bottles at -18 °C until analysed. Determination of PAHs (a standard mixture of 16 priority PAHs) in the purified sample of sediment was accomplished by reverse-phase HPLC with the column temperature at 35 °C and flow-rate at 1.2 mL/min [13].

The sex was determined macroscopically and confirmed by histologic evaluation of hematoxylin-eosin stained sections. Results were tested using ANOVA Mann-Whitney test.

## RESULTS

The values of vitellogenin concentration in blood plasma of the brown trout males from the monitored localities of Tichá Orlice river and its tributary Kralický brook are given in Fig. 2. During the whole period of 2000-2003, the highest values were detected at the Kralický brook downstream of Králíky town. The lowest values were detected at locality Červená Voda (103<sup>rd</sup> km of Tichá Orlice River). Results of statistical comparison of vitellogenin concentrations in blood plasma of males per single sampling site and per year are shown in Table 2. Statistically high significant differences were found all over the tracked period between Červená Voda and Králíky localities ( $P < 0.01$ ); statistically high significant ( $P < 0.01$ ) or statistically significant ( $P < 0.05$ ) differences were found in the Králíky locality in comparison with values found in blood plasma of males from the Lichkov locality.

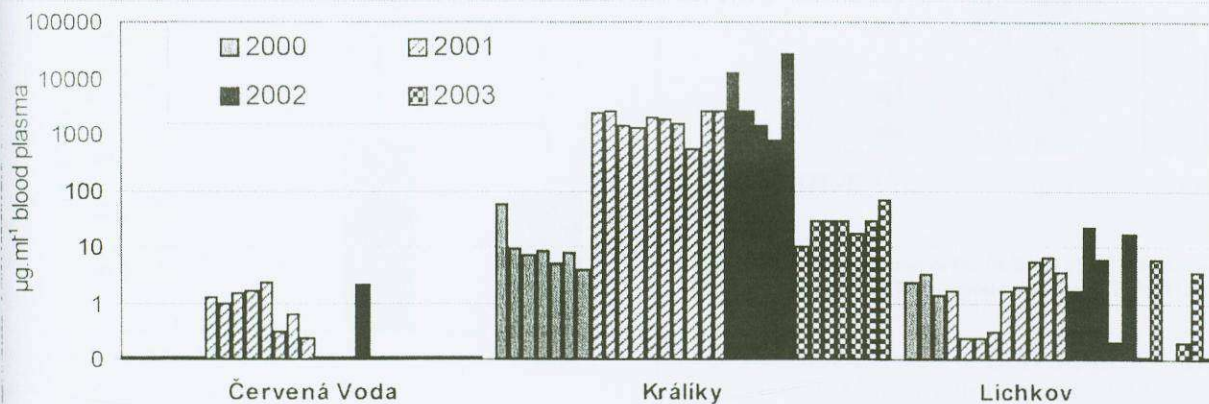


FIGURE 2 - Comparison of vitellogenin concentrations in blood plasma of brown trout males (*S. trutta fario*) from monitored sites of Tichá Orlice river.

TABLE 2 - Comparison of vitellogenin concentration in blood plasma of brown trout males (*S. trutta fario*) among monitored localities (Mann - Whitney test).

Compared localities	Comparison of Localities (p)			
	2000	2001	2002	2003
Červená Voda versus Kralický brook	0.001	0.001	0.001	0.001
Červená Voda versus Lichkov	0.02	0.71	0.03	0.13
Kralický brook versus Lichkov	0.02	0.03	0.007	0.001

Values of content of industrial pollutants in monitored localities are presented in Fig. 3 (PAH in bottom sediments), in Fig. 4 (1-OHPY concentrations in bile of brown trout males), in Fig. 5. (PCBs in muscle of brown trout males) and in Fig. 6 (HCB in muscle of brown trout males). The highest content of all monitored industrial pollutants in sediment (PAH) and in fish muscle (PCB, OCS) were found in the Kralický brook.

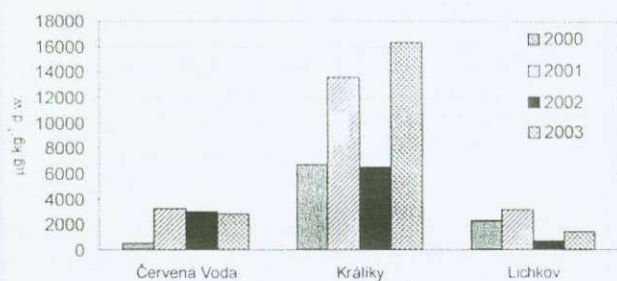


FIGURE 3 - Comparison of the contents of PAH in dry matter of bottom sediments from monitored sites of Tichá Orlice river.

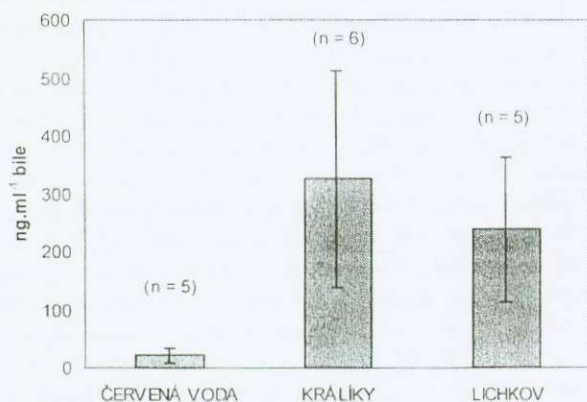


FIGURE 4 - Comparison of 1-OHPY concentrations in bile of brown trout males (*S. trutta fario*) from monitored localities in 2000 (n = number of samples)

Similarly, concentrations of 1-OHPY (biochemical marker of PAH contamination) in bile were the highest in brown trout males from the Kralický brook. The most contaminated site was Kralický brook followed by the Lichkov site and the lowest values were noticed at Červená Voda. Concentration of 1-OHPY in bile of fish from monitored sites was measured only in 2000 (Fig.4). A previous study [14] has confirmed positive correlation between the content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in sediment and 1-OHPY in bile of fish during 1998, 1999 and 2000. The biomarker 1-OHPY was not measured in 2001-2003. Pollution level was assessed on the basis of total PAH concentration in bottom sediment.

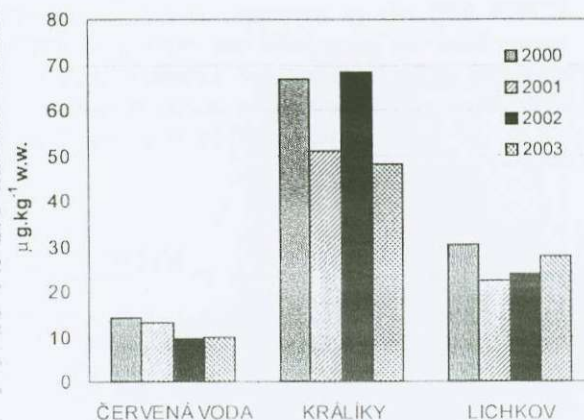


FIGURE 5 - Comparison of the contents of sum of PCBs in brown trout (*S. trutta fario*) muscle from monitored sites of Tichá Orlice river.

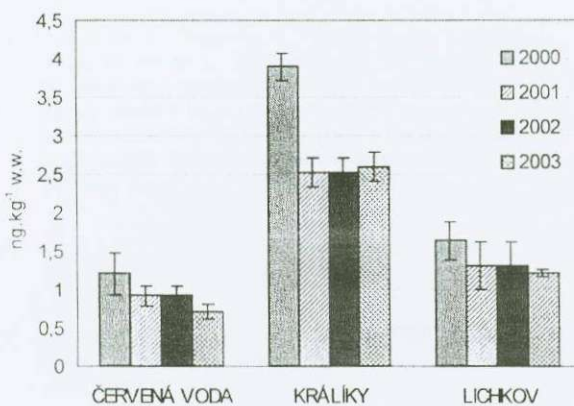


FIGURE 6 - Comparison of the contents of HCB in brown trout (*S. trutta fario*) muscle from monitored sites of Tichá Orlice river.

Values of the content of HCH (range of values - Červená Voda: 0.3-1.0; Kralický brook: 0.2-1.0; Lichkov: 0.1-0.8) and DDT (range of values - Červená Voda: 33.3-42.9; Kralický brook: 44.2-53.0; Lichkov: 27.4-34.3) in brown trout muscle ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$  w.w.) were comparable on all monitored sites of the Tichá Orlice river. Values of the content of OCS were measured in muscle of fish in 2001, 2002 and 2003. The highest content of OCS was detected on the Kralický brook site ( $0.1 \mu\text{g.kg}^{-1}$  w.w.), and lower values were detected at the Lichkov locality ( $0.05 \mu\text{g.kg}^{-1}$  w.w.). The value of the content of OCS at the unpolluted Červená Voda site was  $0.03 \mu\text{g.kg}^{-1}$  w.w.

## DISCUSSION AND CONCLUSION

The Tichá Orlice river provided to the research team an almost ideal model situation for studying the surface water loading with pollutants. At all sites under study it

was possible to collect the same fish specie – the brown trout (*S. trutta fario*). On its upper stretch (Červená Voda), the fish population was entirely natural. The two downstream sites (Králíky and Lichkov) were managed by the local angling club and are hence purposefully stocked. There was found the practically ideal unpolluted control site (Červená Voda), which showed the minimum loading in almost all parameters as evident from Fig. 1-6. The only exception was the arsenic (As) concentration in brown trout (*S. trutta fario*) muscle [15]. The site Lichkov – several km downstream the pollution source showed approximately half-values in comparison with the site influenced by the direct pollution source (Králíky).

The mercury (Hg) content in fish muscle on sites Králíky and Lichkov was significantly higher in comparison with unloaded site Červená Voda ( $P < 0.01$ ) [15]. This finding is in direct connection with the local long-term industrial pollution.

Kralický brook (the tributary of the Tichá Orlice river), where the source of the long-term loading in the Králíky town and its vicinity is located, showed the highest values of loading in all parameters under study (Fig. 1-6). The values of vitellogenin concentration in the blood plasma of brown trout males (Fig. 2) on this site are equivalent or similar to the values, which are reported by Christiansen et al. [16] on the 9th day following the intraperitoneal treatment by  $17\beta$ -estradiol ( $0.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), nonylphenol ( $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) and bisphenole A ( $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Also Norman [17] reports the same values of vitellogenin concentration in blood plasma of rainbow trout (*O. mykiss*) males following the 12-day exposition to  $17\alpha$ -ethinylestradiol applied into water ( $10 \text{ ng.l}^{-1}$ ). The highest vitellogenin values in blood plasma of males from the site Králíky corresponded to the values found in females from all sampling sites of the Tichá Orlice river (vitellogenin in the blood plasma of 1-2 female individuals was also determined on each site as a natural positive control). Recorded high vitellogenin values in the blood plasma on the polluted Králíky site prove significant differences in comparison with the control site Červená Voda and also the site downstream of the source of pollution in Lichkov (Tab. 2 and Fig. 2). It can be concluded from these data that the reproductive ability of males from the site Králíky is significantly influenced. It may confirm the assumption that reported problems with fish reproduction in the Králíky region are due to the surface water loading by endocrine disruptors. Keith [4] records among endocrine disruptors also substances, which were studied on behalf of the monitoring of the Tichá Orlice river: PCB, HCH, PAU, HCB, OCS, DDT, Hg. Increased values of concentrations of these substances in fish bodies and river bottom sediments on monitored sites may be the reason of pathological changes in the physiology of local brown trout (*S. trutta fario*) population, which cause the reproductive disturbances.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the USB RIFCH no. MSM6007665809 and Ministry of the Environment of the Czech Republic VaV/340/1/01 (The Effect of Environmental Pollution on Contamination and Quality of Biotic Components of Ecosystem).

## REFERENCES

- [1] Kredl, F., Svobodník, J. and Svobodová, Z. (1989) Residues of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in fish coming from different localities in the Czech Republic. *Veter. Med. (Praha)*, 34: 239 – 250
- [2] Lusková, V., Korunová, V., Halačka, K. and Lusk, S. (1997) Mercury content in the tissues of brown trout in the longitudinal profile of the Tichá Orlice River. *Proceedings of 8<sup>th</sup> Conference „Toxicity and biodegradability of matters important in water management“*, SB RIFCH Vodňany, Aquachemie Ostrava, pp. 346 – 352
- [3] Svobodová, Z., Vajcová, V., Vykusová, B., Kolářová, J., Modrá, H., Groch, L., Hajšlová, J. and Kocourek, V. (1999) The monitoring of contamination of the Tichá Orlice River and its tributary the Kralický Brook by organic pollutants. *Proceedings of 9th Conference „Toxicity and biodegradability of matters important in water management“*, SB RIFCH Vodňany, Aquachemie Ostrava, pp. 95 – 104
- [4] Keith, L.H. (1997) *Environmental endocrine disruptors*. John Wiley and Sons, New York, 1232 p.
- [5] Schwaiger, J. and Negele, R.D. (1998) Plasma vitellogenin – a blood parameter to evaluate exposure of fish to xenoestrogens. *Acta Vet. Brno*, 67:257 – 264
- [6] Sumpter, J. P. and Jobling, S. (1995) Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect*, 103:173 – 178
- [7] Hansen, P.D., Dizer, H., Hock, B., Marx, A., Sherry, J., McMaster, M. and Blaise, C. (1998) Vitellogenin: a biomarker for endocrine disruptors. *Trends Anal. Chem.* 17:448 – 451
- [8] Allen, Y., Matthiessen, P., Scott, A. P., Haworth, S., Feist, S. and Thain J. E. (1999) The extent of oestrogenic contamination in the UK estuarine and marine environments – further surveys of flounder. *Sci. Total. Environ.*, 233:5 – 20
- [9] Livingstone, D. R., Mitchelmore, C. L., Peters, L.D., O'hara, S.C., Shaw, J. P., Chesman, B.S., Doyotte, A., Mcevoy, J., Ronisz, D., Larsson, D. G. and Forlin, L. (2000) Development of hepatic CYP1A and blood vitellogenin in eel (*Anguilla anguilla*) for use as biomarkers in the Thames Estuary. *UK. Mar. Environ. Res.*, 50:367 – 371
- [10] Karels, A., Markkula, E. and Oikari, A. (2001) Reproductive, biochemical, physiological, and population responses in perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.) downstream of two elemental chlorine free pulp and paper mills. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20:1517 – 1527

- [11] Hecker, M., Tyler, Ch.R., Hoffman, M., Maddix, S. and Karbe, L. (2002) Plasma biomarkers in fish provide evidence for endocrine modulation in the Elbe River, Germany. *Environ. Sci. Technol.*, 36:2311 – 2321
- [12] Peňáz, M., Svobodová, Z., Baruš, V., Prokeš, M., Hajšlová, J. and Drastichová, J. (2004) Evidence for endocrine disruption and sex reversal in a barbel, *Barbus barbus* population. *J. Fish Biol.*, in press
- [13] Hosnedl, T. (2003) Study of environmental biotic compartment exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. Doctoral Thesis, Institute of Chemical Technology, Dept. of Food Chemistry and Analysis, Prague, 160 p.
- [14] Hosnedl, T., Hajšlová, J., Kocourek, V., Tomaniová, M. and Volka, K. (2003) 1-hydroxypyrene as a biomarker for fish exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71:465-472
- [15] Svobodová, Z., Čelechovská, O., Kolářová, J., Randák, T. and Žlábek, V. (2004) Assessment of metal contamination in the upper reaches of the Tichá Orlice River Czech *J. Anim. Sci.*, 49:(10): 458-464
- [16] Christiansen, L. B., Pedersen, K. L., Korsgaard, B. and Bjerregaard, P. (1998) Estrogenicity of xenobiotics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using in vivo synthesis of vitellogenin as a biomarker. *Mar. Environ. Res.* 46:137-140
- [17] Norman, A. (2002) Exposure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and zebrafish (*Danio rerio*) to 17  $\alpha$ -ethinylestradiol and effluents from Uppsala sewage treatment plant, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Uppsala, Study no.27, 51 p.

---

**Received:** March 01, 2004

**Revised:** October 01, 2004; March 18, 2005

**Accepted:** May 20, 2005

---

#### CORRESPONDING AUTHOR

##### Jitka Kolářová

University of South Bohemia Ceske Budejovice  
Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology  
389 25 Vodnany - CZECH REPUBLIC

Phone: +420 342 382402

Fax: +420 342 382396

e-mail: kolarova@vurh.jcu.cz

## Assessment of metal contamination in the upper reaches of the Tichá Orlice River

Z. SVOBODOVÁ<sup>1,2</sup>, O. ČELECHOVSKÁ<sup>2</sup>, J. KOLÁŘOVÁ<sup>1</sup>, T. RANDÁK<sup>1</sup>, V. ŽLÁBEK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of South Bohemia, České Budějovice, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, Czech Republic

<sup>2</sup>University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to assess metal contamination in the same reaches of the river, and thus to help explain unsatisfactory reproduction results in the reproduction of salmonoid fish. The contamination assessment was based on measuring metal concentrations in the brown trout (*Salmo trutta morpha fario*) and some bottom sediment samples. The samples were collected in June 2000 and 2001 at two collection sites from the Tichá Orlice River (Červená Voda – 103rd river km; Lichkov – 93rd river km) and its tributary Kralický Brook (100th river km). At each of the sites, 14 brown trouts were collected in each of the periods of monitoring. The AAS method was used to determine the total mercury, arsenic, cadmium, lead, copper, zinc, chromium and nickel contents in the muscle tissue of the fish and in aquatic sediments. The Kralický Brook is an important anthropogenic source of metal contamination (particularly of mercury and copper) for the Tichá Orlice River. The highest concentrations of mercury in muscles of brown trout were found at the Kralický Brook ( $0.37 \pm 0.08$  and  $0.40 \pm 0.08$  mg/kg) and Lichkov ( $0.41 \pm 0.10$  and  $0.34 \pm 0.07$  mg/kg) in 2000 and 2001 and the lowest concentration at Červená Voda ( $0.017 \pm 0.02$  mg/kg in the same years). Significantly higher concentrations of arsenic (in 2000:  $0.30 \pm 0.08$  mg/kg; in 2001:  $0.38 \pm 0.07$  mg/kg) were found in the muscle tissue of the brown trout collected at Červená Voda than at the downstream site Lichkov (in 2000:  $0.18 \pm 0.09$  mg/kg; in 2001:  $0.14 \pm 0.07$  mg/kg). The authors hypothesize that the difference was due to different conditions (principally water temperature). It seems reasonable to assume that unsatisfactory results in the reproduction of fish from the upper reaches of the Tichá Orlice River are due not only to organic pollutants but also to mercury compounds that are classified among suspect endocrine disruptors.

**Keywords:** Elbe tributary; *Salmo trutta morpha fario*; brown trout; muscle; mercury; arsenic; AAS

The upper reaches of the Tichá Orlice River and Kralický Brook came under scrutiny of ichthyopathologists and ichthyotoxicologists in the late 20th century. At various sites of the headwaters of the river, adult brown trout (*Salmo trutta morpha fario*) and grayling (*Thymallus thymallus*) were caught and used for artificial reproduction. The results of the reproduction, however, were not satisfactory. The stretch of the Tichá Orlice between the 59th and the 100th river km is rightly considered a contaminated area (Korunová *et al.*, 1997). Until 1990, the Tesla Company operated a manufacturing facility in the town of Králíky where mercury was used

in the production of fluorescent lights. Lusková *et al.* (1997) identified Tesla Králíky at the Kralický Brook as the main source of mercury contamination of the brown trout. Besides mercury, organic pollutants were also monitored at the Tichá Orlice River (Kredl *et al.*, 1989; Svobodová *et al.*, 1999). The results obtained by Svobodová *et al.* (1999) showed that Kralický Brook discharged significant amounts of organic pollutants (PCB, PAH, OCS, HCB, DDT and its metabolites, HCH) to the Tichá Orlice.

The principal indicator of metal contamination in the upper reaches of rivers is fish tissue (Svobodová *et al.*, 1996). In the study area of the Tichá Orlice

Supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project MSM No. 122200003).

River and its tributary, the Kralický Brook, the principal indicator species is the brown trout. It is a dominant species there from the aspect of both the fish biota and the local angling activities.

The present paper gives the results of a study of metal content in the muscle tissue of brown trout collected at three sites along a 10 km stretch of the Tichá Orlice River and its tributary. The aims of the study were:

- to measure contamination levels at individual collection sites and thus to help explain the reasons for unsatisfactory results in artificial reproduction; and
- to compare metal contents in muscle tissue of brown trout with public health standards, and thus to help implement the food safety strategies.

The study is a follow-up of research into organic pollutant contamination of the upper reaches of the Tichá Orlice River and their role in endocrine disruption in the brown trout population (Kolářová *et al.*, 2004).

## MATERIAL AND METHODS

The fish (*Salmo trutta morpha fario*) were collected at sites along the upper reaches of the Tichá Orlice

River (the right-hand side tributary of the River Elbe) in June 2000 and June 2001. The collection sites were Červená Voda at the Tichá Orlice (103rd river km), the tributary of the Tichá Orlice – Kralický Brook (100th r. km) and Lichkov at the Tichá Orlice (93rd r. km) (Figure 1). The fish were collected after they were stunned using an electric generator set. At each site, 14 brown trouts were thus collected (7 females and 7 males). The caught fish were immediately weighed, their age was determined from their scales, and tissue samples for metal content assessment were collected. The sex of the fish was determined macroscopically and checked by the histological examination of gonads. The main characteristics of the fish species examined in this study are summarised in Table 1. Muscle tissue samples were placed in polyethylene bags, labelled and stored in a freezer at  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Muscle samples of individual brown trout were analysed for the content of mercury, arsenic, lead, cadmium, copper, zinc, chrome and nickel. The total mercury content in fish muscle tissues was determined by the AAS method using a single-purpose mercury analyser AMA-254 (ALTEC Ltd.). The determination of Pb, Cd, Cr, Cu and Ni in fish muscle tissues was performed by the ETAAS, and the Zn level was determined by the FAAS (Z-5000

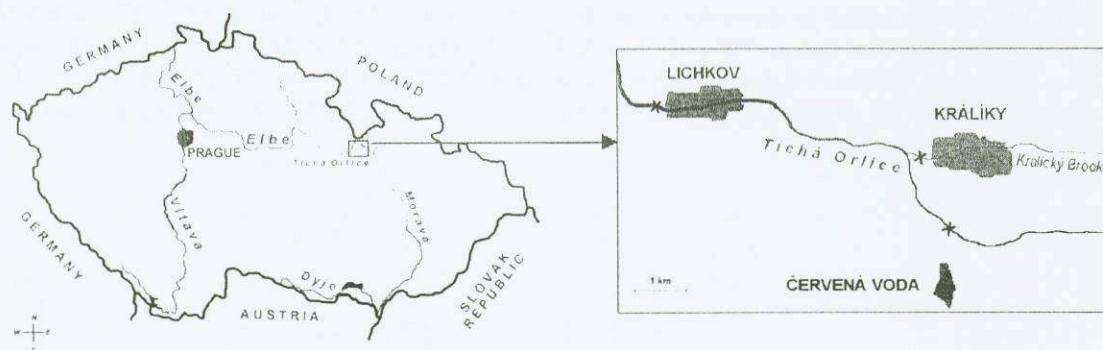


Figure 1. Map of the Czech Republic and location of sampling sites in the present study

Table 1. The main characteristics of the brown trout population sampled

Collection site	2000			2001		
	Fish weight (g)		Age (years)	Fish weight (g)		Age (years)
	mean $\pm$ SD	(n)	min – max	mean $\pm$ SD	(n)	min – max
Červená Voda	81 $\pm$ 25	(14)	2' – 3'	107 $\pm$ 34	(14)	2' – 3'
Kralický	142 $\pm$ 26	(14)	2' – 3'	137 $\pm$ 26	(14)	2' – 4'
Lichkov	127 $\pm$ 35	(14)	2' – 3'	139 $\pm$ 19	(14)	2' – 4'

n = number of fishes examined

apparatus from Perkin Elmer was used in all tests) after mineralization. Mineralization of fish muscle tissue for the determination of metal contents was carried out in microwave-heated laboratory autoclaves, using nitric acid and hydrogen peroxide (Uniclever, Plasmatronica). Samples for the determination of arsenic were processed as above and ashed in a muffle oven (450°C) with an addition of magnesium nitrate. The ash was dissolved in hydrochloric acid,  $As^V$  was reduced to  $As^{III}$ . Arsenic levels were determined by the hydride technique on the MHS-20 apparatus attached to an atomic absorption spectrometer. The accuracy of the results was validated by the following standard reference materials: CRM No. 278 (mussel tissue of *Mytilus edulis*-BCR); MA-B-3/(TM) (fish homogenate-IAEA); TORT-2 (lobster hepatopancreas-NRC-CNRC).

In 2001, samples of bottom sediments were collected at three sites (Červená Voda, Kralický Brook and Lichkov) and analysed for metal contamination. Because the river bed is covered with gravel and sand at those sites, it was only possible to collect clay sediments in a few places with a moderate flow rate. The collected sediment samples were put into polyethylene bags and stored in a freezer at  $-18^\circ\text{C}$ . Sediment samples were adjusted according to ISO 11466 prior to the metal contamination analysis.

The FAAS was used to analyse the sediments for Pb, Cd, Cr, Cu, Ni and Zn, and the hydride technique was used to determine the As load. The AMA 254 mercury analyser was used to determine the total mercury content in sediments.

Results were tested using ANOVA in Statgraphics software, Unistat 5.1 and MS-EXCEL 7.0. For the interpretation of the results, maximum limits for fish published in Decree No. 53/2002 of the Ministry of Health of the Czech Republic were used.

## RESULTS

In the first part of the evaluation, metal concentrations in muscle tissues of female and male fish from individual sites at the Tichá Orlice and its tributary, the Kralický Brook, from the years 2000 and 2001 were compared. Because no significant sex-related differences in metal concentrations in muscle tissues were found, all fish from individual sites ( $n = 14$ ) were used in further evaluations irrespective of their sex.

An overview of mercury and arsenic concentrations in muscle tissues of brown trout from the collection sites is in Figures 2 and 3. Cadmium, copper, zinc, chromium and nickel concentrations in muscle tissues of brown trout from collection sites at the Tichá Orlice are in Table 2. Concentrations of lead were under the detection limit of the method (0.05 mg/kg) in all samples from the years 2000 and 2001.

The highest mercury concentrations were found in brown trout caught at the Kralický Brook ( $0.37 \pm 0.08$  and  $0.40 \pm 0.08$  mg/kg) and Lichkov ( $0.41 \pm 0.10$  and  $0.34 \pm 0.07$  mg/kg) in both 2000 and 2001, and the values were very similar at both sites. The de-



Figure 2. Comparison of mercury contents in muscles of brown trout from monitored sites of the Tichá Orlice River. 1, 2 – Červená Voda 2000, 2001; 3, 4 – Kralický 2000, 2001; 5, 6 – Lichkov 2000, 2001; bottom, top line = lower, upper quartile; middle line = median; lower, upper whisker = lower, upper adjacent value; notch: standard error

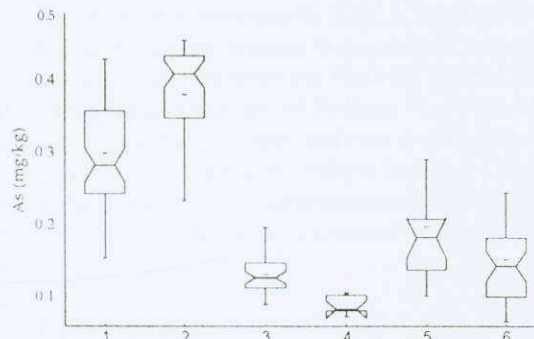


Figure 3. Comparison of arsenic contents in muscles of brown trout from monitored sites of the Tichá Orlice River. 1, 2 – Červená Voda 2000, 2001; 3, 4 – Kralický 2000, 2001; 5, 6 – Lichkov 2000, 2001; bottom, top line = lower, upper quartile; middle line = median; lower, upper whisker = lower, upper adjacent value; notch: standard error

Table 2. Content of metals in muscles of brown trout from the localities under study (2000 and 2001)

Locality	Cd	Cu	Zn	Cr	Ni
	mean $\pm$ SD (mg/kg w.w.)				
Červená Voda 2000	0.0073 $\pm$ 0.0066	0.273 $\pm$ 0.047	4.18 $\pm$ 0.98	0.081 $\pm$ 0.051	0.142 $\pm$ 0.098
Červená Voda 2001	0.0055 $\pm$ 0.0021	0.229 $\pm$ 0.051	4.25 $\pm$ 0.73	0.049 $\pm$ 0.033	0.067 $\pm$ 0.059
Králíky 2000	0.0031 $\pm$ 0.0017	0.343 $\pm$ 0.075	3.85 $\pm$ 0.94	0.072 $\pm$ 0.058	0.148 $\pm$ 0.142
Králíky 2001	0.0020 $\pm$ 0.0008	0.259 $\pm$ 0.035	4.53 $\pm$ 0.77	0.059 $\pm$ 0.040	0.102 $\pm$ 0.060
Lichkov 2000	0.0068 $\pm$ 0.0129	0.301 $\pm$ 0.084	4.31 $\pm$ 1.50	0.051 $\pm$ 0.057	0.146 $\pm$ 0.073
Lichkov 2001	0.0023 $\pm$ 0.0009	0.191 $\pm$ 0.035	3.62 $\pm$ 0.62	0.074 $\pm$ 0.044	0.083 $\pm$ 0.053

w. w. = wet weight

Table 3. Content of metals in dry matter of bottom sediments from the localities under study (2001)

Locality	Hg	As	Cd	Pb	Cu	Zn	Cr	Ni
	mg/kg d.w.							
Červená Voda	0.23	7.2	0.58	36.6	11.8	66.1	9.7	6.8
Králíky	3.69	7.7	0.78	75.5	65.2	296.7	23.2	20.1
Lichkov	0.90	6.4	0.52	31.3	20.1	83.8	13.5	9.7

d. w. = dry weight

crease in mercury concentrations in muscle tissues of the brown trout (2000 and 2001:  $0.17 \pm 0.02$  mg/kg) collected at Červená Voda (i.e. above the source of pollution) was highly significant ( $P < 0.01$ ) in both years. On the other hand, arsenic concentrations in muscle tissues of the brown trout from the same site, i.e. Červená Voda, were significantly higher ( $P < 0.01$ ) in 2000 and 2001 ( $0.29 \pm 0.08$  and  $0.37 \pm 0.07$  mg/kg) compared with arsenic concentrations found at Králíky ( $0.13 \pm 0.03$  and  $0.01 \pm 0.04$  mg/kg) and Lichkov ( $0.18 \pm 0.10$  and  $0.14 \pm 0.08$  mg/kg). Arsenic concentrations in muscle tissues of fish from Králíky and Lichkov were comparable in the two years. There were no significant differences in the concentrations of other metals monitored in the brown trout, i.e. cadmium, lead, zinc, chromium and nickel, between the three sites in 2000 or 2001. The only exception was copper, whose muscle tissue concentrations in the brown trout caught at Králíky were higher ( $P < 0.05$ ) than those found in brown trout caught at Červená Voda in 2000 and at Lichkov in 2001.

The second part of the study was a comparison between the concentrations of metals monitored

in brown trout (Hg, As, Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Ni) in 2000 and 2001. The comparison failed to show any significant differences between the concentrations at individual sites found in 2000 and 2001.

Metal concentrations in aquatic sediments at the collection sites are given in Table 3. It follows from the data that the highest concentrations were in samples collected from the Kralický Brook downstream from the town of Králíky. The concentrations of mercury, copper and zinc at that site were several times higher than those found at Červená Voda and Lichkov. Arsenic concentrations at all the investigated sites were practically identical.

## DISCUSSION

To assess metal contamination levels at individual sites along the upper reaches of the Tichá Orlice River, the brown trout was used as the main indicator species for the upper reaches of rivers (Studnicka *et al.*, 1974; Svobodová *et al.*, 1982; Woodward *et al.*, 1995; Clements and Rees, 1997; Eden *et al.*, 1999; Honnen *et al.*, 2001). It follows from the comparison



of metal concentrations in muscle tissues of fish caught at individual collection sites that the source of mercury contamination in the upper reaches of the Tichá Orlice River is its right-hand tributary Kralický Brook. This result is in agreement with the data reported by Lusková *et al.* (1997), who identified the plant of Tesla Králíky Company as the source of contamination. The company ended its production of fluorescent lights in 1990. Lichkov at the Tichá Orlice about 7 km downstream from its confluence with the Kralický Brook showed almost the same level of mercury contamination as the Kralický Brook itself. In brown trout caught at Kralický Brook, higher concentrations of copper ( $P < 0.05$ ) compared with the trout from Červená Voda and Lichkov were found.

Higher concentrations of mercury and copper in muscle tissues of brown trout collected at the Kralický Brook seem to copy the higher metal concentrations in aquatic sediments. The levels of zinc, chromium, nickel, lead and cadmium were, however, higher in aquatic sediments at the Kralický Brook site than in the muscle tissue of local fish. It was mentioned earlier that the river bottom at the collection sites was mostly covered with gravel and sand. For metal concentration analyses, samples of clay sediment were collected that were, however, found in a few places at the collection sites. Bottom sediments in upper reaches of rivers are not suitable indicators of contamination levels and the values ascertained should be considered as rough approximations only. Compared with mercury and arsenic, neither zinc, chromium, nickel, lead nor cadmium are considered highly accumulative metals (Svobodová *et al.*, 1996).

Arsenic concentrations in bottom sediments at all three sites were practically the same. Although significantly higher arsenic concentrations were found in the muscle tissue of brown trout at Červená Voda, no significantly higher anthropogenic contamination than at the other sites is assumed there. The Červená Voda site is situated almost on the Tichá Orlice headwaters. The characteristics of this site are different from those at downstream sites which are subject to anthropogenic (household and industrial) pollution. Pollutants at the Červená Voda site may come from agricultural activities. The evidence of it is the levels of DDT and its metabolites and HCH that were practically identical at all three sites investigated in this study (Kolářová *et al.*, 2004). No other sources of pollution were identified in the vicinity of the site. Compared with the downstream

sites, mainly its basic characteristic, i.e. water temperature, was different at the Červená Voda site. The temperature of water in the Tichá Orlice headwaters is on average 2°C lower during the vegetation period. Higher arsenic concentrations in fish tissues at lower water temperatures were demonstrated by Chan and Huff (1997) and Svobodová *et al.* (2002). Chan and Huff (1997) believed that the rate of detoxification processes slowed down at lower water temperatures. Food uptake is reduced, which leads to the reduction in the uptake of methionine, choline and proteins generally. And compared with Kralický Brook and Lichkov, Červená Voda offers significantly poorer trophic conditions, which was demonstrated both in 2000 and 2001 by the significantly lower weights of fish of the same age ( $P < 0.01$ ) from Červená Voda than from Králíky and Lichkov (Table 1).

This leads to a reduction in the elimination of methylated compounds of arsenic from the organisms and in concert of that to an increased accumulation of arsenic in tissues. Unsatisfactory results of artificial reproduction of brown trout and grayling caught at sites along the upper reaches of the Tichá Orlice River can be explained by contamination of the river with environmental endocrine disruptors (EEDs). Kolářová *et al.* (2004) found very high concentrations of vitellogen as a biochemical marker of the EED contamination in the blood plasma of male brown trout. The cause of endocrine disruption in the fish in the upper reaches of the Tichá Orlice River may be a number of organic pollutants (PAH, PCB, HCB, etc.), and it is possible that mercury compounds may also play a role in it (Keith, 1997).

The total mercury concentration found in the muscle tissue of brown trout at Kralický Brook and at Tichá Orlice – Lichkov is markedly elevated, its levels being mostly between 0.3 and 0.5 mg/kg. Some fish caught at those sites even exceed maximum limits for predatory fish, i.e. 0.5 mg/kg muscle tissue. Concentrations of the other metals in the muscle tissue of brown trout caught at all the collection sites in 2000 and 2001 were below the effective limits (As – 1, Cd – 0.05, Pb – 0.2, Cu – 10.0, Zn – 50.0, Ni – 0.05, Cr – no limit for fish – general limit 4.0 mg/kg).

## REFERENCES

- Chan P.C., Huff J. (1997): Arsenic carcinogenesis in animals and humans. *Environ. Carcin. Ecotox. Rews.*, 15,

- 83–122.
- Decree No. 53/2002 of the Ministry of Health of the Czech Republic (Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 53 z roku 2002, kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití přídatných látek, pomocných a potravních doplňků).
- Clements W.H., Rees D.E. (1997): Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habits, and metal uptake of brown trout in the Arkansas River, Colorado. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126, 774–785.
- Eden P., Weppling K., Jokela S. (1999): Natural and land-use induced load of acidity, metals, humus and suspended matter in Lestijoki, a river in western Finland. *Boreal Environ. Res.*, 4, 31–43.
- Honnen W., Rath K., Schlegel T., Schwinger A., Frahn D. (2001): Chemical analyses of water, sediment and biota in two small streams in southwest Germany. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery*, 8, 195–213.
- ISO 11466 (1995): (E) Soil quality – Extraction of trace elements soluble in *aqua regia*.
- Keith L.H. (1997): Environmental endocrine disruptors. John Wiley and Sons, New York, 1232 p.
- Kolářová J., Svobodová Z., Žlábek V., Randák T., Hajšlová J., Suchan P. (2004): Evidence for endocrine disruption in brown trout (*Salmo trutta fario*) population from Tichá Orlice river. *Fresenius Environ. Bull.*, 13, ? **in press**.
- Kredl F., Svobodník J., Svobodová Z. (1989): Residues of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in fish coming from different localities in the Czech Republic. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 239–250.
- Korunová V., Lusková V., Lusk S., Vobecký M. (1997): Ryby jako indikátor rtuti v Tiché Orlici. In: Sborník Konference Orlice 97, Orlická hydrogeologická společnost, Letohrad, 71–74.
- Lusková V., Korunová V., Halačka K., Lusk S. (1997): Mercury content in the tissues of brown trout in the longitudinal profile of the Tichá Orlice River. In: Proceedings of 8th Conference, Toxicity and biodegradability of matters important in water management, SB RIFCH Vodňany, Aquachemie Ostrava, 346–352.
- Studnicka M., Hejtmánek M., Svobodová Z. (1974): Determination of mercury contents in muscles of fishes from the river Vltava and its tributary streams. *Acta Vet. Brno*, 43, 145–151.
- Svobodová Z., Hejtmánek M., Vostradovský J. (1982): Total mercury content in the basic components of the ecosystem of the Vltava river below Český Krumlov (in Czech). *Bulletin VÚRH Vodňany*, 18 (3), 28–33.
- Svobodová Z., Máchová J., Vykusová B., Ptačka V. (1996): Kovy v ekosystémech povrchových vod. VÚRH, edice Metodik, Vodňany, č. 49, 18 s.
- Svobodová Z., Vajcová V., Vykusová B., Kolářová J., Modrá H., Groch L., Hajšlová J., Kocourek V. (1999): The monitoring of contamination of the Tichá Orlice River and its tributary the Kralický Brook by organic pollutants. In: Proceedings of 9th Conference Toxicity and biodegradability of matters important in water management, SB RIFCH Vodňany, Aquachemie Ostrava, 95–104.
- Svobodová Z., Čelechovská O., Máchová J., Randák T. (2002): Content of arsenic in market-ready rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno*, 71, 361–367.
- Woodward D.F., Hansen J.A., Bergman H.L., Little E.F., DeLonay A.J. (1995): Brown trout avoidance of metals on water characteristics of the Clark Fork river, Montana. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52, 2031–2037.

Received: 04–03–02

Accepted after corrections: 04–09–01

## ABSTRACT

## Posouzení kontaminace horního toku řeky Tichá Orlice kovy

Cílem této práce bylo posoudit kontaminaci řeky Tichá Orlice kovy a přispět tak k hodnocení příčin neuspokojivých výsledků reprodukce lososovitých ryb. K indikaci kontaminace byl použit pstruh obecný (*Salmo trutta morpha fario*) a orientačně též sedimenty dna. Odběry vzorků byly provedeny v měsíci červnu 2000 a 2001 na dvou lokalitách řeky Tiché Orlice (Červená Voda – 103 ř. km; Lichkov – 93 ř. km) a na jejím přítoku, Kralickém potoce (100 ř. km). Na každé lokalitě bylo v obou sledovaných obdobích odloveno po 14 kusech pstruha obecného. Ve svalovině ryb a v sedimentech dna byl metodou AAS stanoven celkový obsah rtuti, arzenu, kadmia, olova, mědi, zinku, chromu a niklu. Výraznou antropogenní kontaminaci kovy (zejména rtuti a mědi) přináší do Tiché Orlice Kralický potok. Nejvyšší obsah rtuti ve svalovině pstruhů obecných byl zjištěn v lokalitě Kralický potok ( $0,37 \pm 0,08$  a  $0,40 \pm 0,08$  mg na kg) a Lichkov ( $0,41 \pm 0,10$  a  $0,34 \pm 0,07$  mg/kg) v letech 2000 a 2001 a nejnižší obsah v lokalitě Červená Voda ( $0,017 \pm 0,02$  mg/kg v obou letech). Signifikantně vyšší obsah arzenu (2000:  $0,30 \pm 0,08$  mg/kg; 2001:  $0,38 \pm 0,07$  mg/kg)

byl zjištěn ve svalovině pstruhů obecných v lokalitě Červená Voda ve srovnání s níže položenou lokalitou (Lichkov 2000;  $0,18 \pm 0,09$  mg/kg; 2001:  $0,14 \pm 0,07$  mg/kg). Autoři se domnívají, že rozdíl byl způsoben odlišnými podmínkami (především teplotou vody). Lze předpokládat, že na neuspokojivých výsledcích reprodukce ryb z horního toku Tiché Orlice se vedle organických polutantů podílejí i sloučeniny rtuti, které jsou řazeny mezi podezřelé endokrinní disruptory.

**Klíčová slova:** přítok Labe; *Salmo trutta* morpha *fario*; pstruh obecný; svalovina; rtuť; arzen; AAS

---

Corresponding Author

Ing. Olga Čelechovská, Ph.D., katedra biochemie, chemie a biofyziky, Veterinární a farmaceutická univerzita,  
Palackého 1-3, 612 42 Brno, Česká republika  
Tel. +420 541 562 606, e-mail: celechovskao@vfu.cz

---

## Effect of culture conditions on reproductive traits of brown trout *Salmo trutta*.

Tomáš RANDÁK<sup>1</sup>, Martin KOCOUR<sup>1</sup>, Vladimír ŽLÁBEK<sup>1</sup> and Jiří JARKOVSKÝ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> University of South Bohemia, České Budějovice, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, Czech Republic; e-mail: randak@vurh.jcu.cz

<sup>2</sup> Masaryk University, Centre of Biostatistics and Analysis, Kamenice 126/3, 625 00 Brno, Czech Republic

### Abstract:

A programme of rearing brown trout (*Salmo trutta* m. *fario* L.) spawners was established at the Husinec hatchery local unit belonging to the Czech Anglers' Union in 1999 in order to enhance the production of material for restocking the open waters of southwest Czech Republic. Part of progeny derived from artificial propagation (1999) of wild broodstock of original brown trout population of Blanice river has been reared up to the broodstock stage (2002). The three-, four- and five-year-old spawners were artificially reproduced in 2002, 2003 and 2004 and their selected reproductive parameters (weight of eggs per female, total fecundity, relative fecundity, egg diameter, egg weight) were measured and compared to those of the original wild population. In order to assess and compare the biological quality of eggs from farmed and wild females, fertilization rate, duration of incubation period, egg losses during incubation and mortality of starving hatched fry were assessed. The studies showed that farming conditions did not significantly affect the reproductive parameters studied in the first generation of farmed broodstock. Experiments showed similar quality of eggs of the studied groups of fish.

**Key words:** wild, farmed, reproduction, fecundity, fry, mortality, starvation

### Introduction:

Brown trout (*Salmo trutta* m. *fario* L.) is a species native to the Czech Republic. Its occurrence is determined above all by water quality, temperature maxima and oxygen content. It lives for 3 to 5 years and older individuals are less abundant. It matures at age 2 to 4 years and males usually mature one year earlier than females. Relative fecundity of females in Czech brown trout populations ranges from 2000 to 3000 eggs.kg<sup>-1</sup>. Related to water temperature, the egg incubation period ranges from 260 to 520 degree-days (D.D. = days x °C) (Libosvářský 1967, Lusk 1968a,b, Lusk 1969). Due to various factors such as inconsiderate regulations of streams, increasing fishing pressure, predators, anthropogenic pollution, improper management of fishing grounds, etc., brown trout stocks in streams of the Czech Republic have been decreasing for many years. Production of stocking material cannot be further enhanced by traditional way due to the lack of spawners, as it depends on their capture in open waters, their spawning and extensive rearing of fry in breeding brooks. This was the reason for farming the spawners artificially, resulting in significant enhancement of the amount of stocking material.

Due to farming conditions, natural selection can be significantly affected already at the level of eggs. The optimal size of eggs in a natural environment depends to a large extent on the quality of spawning substrate, while eggs of less size are usually preferred by natural selection (van den Berghe & Gross 1989). Under the conditions of fish farming, the size of eggs produced by farmed broodstock usually increases consequently (Fleming & Gross 1990, 1992, Petersson & Järvi 1993). Bigger eggs are a prerequisite of production of bigger alevins (Fowler 1972, Beacham et al. 1985) and of its faster growth (Pitman 1979). A consequent

evolutionary increase of size of farmed fish thus occurs in fish farms (Pettersson & Järvi 1993, Ruzzante 1994). Changes in genetic information may happen due to farming of originally wild fish populations. Most papers in which genetic differences from original populations were demonstrated, were focused to fish populations which have been farmed for several generations (Swain & Riddell 1990, Berejikian et al. 1996, Fleming & Einum 1997, Deverill et al. 1999). However, Verspoor (1988) exemplified significant changes which happened already during first generation of farmed Atlantic salmon due to genetic drift. Experiences of an individual gained under the farming conditions already during a short period may develop changes of phenotypic character, which genetic difference from the original population may not be registered (Fleming & Einum 1997, Metcalfe et al. 2003). If brood fish are farmed artificially, phenotype of the progeny may be affected due to maternal effect (Mousseau & Fox 1998). Although the phenotypic changes induced by effects of farming conditions do not have any great evolutionary importance, they can significantly affect adaptability and viability of artificially reared individuals, stocked into natural conditions (Einum & Fleming 2001).

This study shows the results of assessing the selected reproductive parameters in the first generation of farmed brood fish. It was performed during three consequent spawning seasons. Values of the parameters registered for farmed fish in the respective years were compared to those found for size-similar specimens of the original wild population. This effort was a part of a complete assessment (reproductive traits, quality of eggs, early development of fry, genetic analysis of progeny, adaptability of progeny under natural conditions) with the goal to assess if farming conditions affected the quality of gametes and of progeny of the first generation farmed spawners. Original wild brown trout population, from the progeny of which the brood fish have been farmed, was used as a reference standard.

## Materials and Methods

### Experimental place

The study was carried out at the hatchery of Husinec local unit of Czech Anglers' Union (49°03' N, 14°01' E, 500 meters above sea level) in 1999 – 2004. The hatchery is located on Blanice river downstream the Husinec dam reservoir (37 ha; 2.5 mil m<sup>3</sup>) in southwest part of the Czech Republic. The hatchery is supplied with river water. Average annual water temperature is 8.9 ± 6.7 °C, annual mean discharge in Blanice river is 1.7 ± 1.7 m<sup>3</sup>.

### Wild brood fish sampling

Wild fish were caught every year in the second half of October with a pulsed-DC electrofisher in the protected fish area of Blanice river (river km 52 – 57). Males and females were stored separately in flow-through concrete basins. Ripe fish were hand-stripped and then released back to Blanice river. Eggs were incubated in hatchery trays. The fry obtained from these eggs was usually released to small tributaries of Blanice river. A part of the fry hatched in April 2000 was reared under farming conditions in order to develop the broodstock.

### Brood fish rearing

Rearing of brown trout from fry (spring 2000) until brood fish (autumn 2002) was performed in intensive water flow concrete basins. The basins volumes were 8 m<sup>3</sup> (stock density of fry 1500 – 2000 ks/m<sup>3</sup>) and 20 m<sup>3</sup> (stock density of one-year-old fish 250 ks/m<sup>3</sup>, two-year-old fish 100 ks/m<sup>3</sup>, brood fish 25 - 50 ks/m<sup>3</sup>) for the first and the next years of rearing, respectively. Fish were fed low fat pellets originally destined to rainbow trout. Almost all males were selected out during the first artificial reproduction (2002). Any other voluntary selection was not applied during 2000 - 2004. The first hand-stripping was carried out in 2002 (three-year-old fish), the second one in 2003 (four-year-old fish) and the third one in 2004

(five-year-old fish). Similarly sized wild fish caught in the Blanice river at km 52 – 57 were hand-stripped at the same times and were used as control group (wild fish).

### Stripping

Before stripping, ripe females were anaesthetized with 0.3 ml.l<sup>-1</sup> solution of 2-phenoxyethanol and standard length and total weight of every specimen were recorded to the nearest 1 mm and 0.1 g, respectively. Both groups of fish (wild and farmed) were hand-stripped at the same time. All the females were always hand-stripped between October 30 and November 15 in 2002, 2003 and 2004. Fecundity parameters were detected during the first hand-strippings from random samples of approximately 30 females per group. Eggs of each female were weighed to the nearest 0.01 g. A sample of 30 unfertilized eggs from each female was taken to determine egg size and weight. The mean egg diameter was determined by measuring 10 eggs with calipers to the nearest 0.1 mm. Egg weight was recorded to the nearest 0.001 g.

### Biological quality of eggs

The assessment of biological quality of eggs was carried out in 2002 when fish sizes were still comparable in wild and farmed populations. The goal was to compare the batches of eggs for duration of the incubation period, egg losses during incubation and the course of mortality of starving fry. Three following batches of eggs were compared:

- eggs from 15 wild females fertilized by 10 wild males pooled milt (WxW)
- eggs from 15 farmed females fertilized by 10 wild males pooled milt (FxW)
- eggs from 15 farmed females fertilized by 10 farmed males pooled milt (FxF)

Hand-stripped eggs of each group of females were collected in individual bowls. Sperm was collected individually (10 wild males, 10 farmed males) into 5 ml plastic syringes. 1 ml of sperm was taken from one male. The syringes after milt collection were stored on ice to fertilization (maximally for 20 minutes). Fertilization of each group of eggs was performed using 5 ml of pooled milt from ten males (0.5 ml from each male). The groups of eggs WxW and FxW were fertilized with milt from the identical males. Clear water was added to assist fertilization. The solution was gently swirled for 60s and then washed clean. After fertilization the eggs were allowed to swell for 15 min. Then three hundred eggs from each group were placed for incubation in three trays (100 eggs/tray) located in hatchery troughs. Dead eggs were counted and removed daily. The dead egg counts before the eyed stage were used as a measure of fertilization success (Estay et al. 2004). Water temperature and numbers of dead eggs were recorded during all incubation. Water flowed through hatchery troughs between 5 – 10 l/min. The quality of the eggs was assessed after emerging by checking the daily mortality of starving fry until all stock had died (Berejikian et al. 1999, Migaud et al. 2001).

### Statistical analyses

The data obtained were processed for each year (2002-2004) separately and also together for the whole three-year period in order to compare individual reproductive parameters of both the wild riverine population and the farmed (pond-reared) fish. Standard length and spawning weight were compared by ANOVA. Reproductive parameters were compared by ANCOVA with standard length as covariate. ANCOVA was used to eliminate the fish size differences between wild and farmed populations. Differences in the traits studied were compared by Tukey multiple range test ( $\alpha < 0.05$ ) in Statgraphics software v. 5.

The distribution functions of the time of fry death ( $F_{WxW}$ ,  $F_{FxF}$ ,  $F_{FxW}$ ) were computed. These distribution functions were compared using the Kolmogorov-Smirnov test (KS test). The null hypothesis was that the distribution functions did not differ, e.g.:  $H_0: F_{WxW} = F_{FxF}$ , the alternative hypothesis was that the distribution functions differed, e.g.  $H_A: F_{WxW} \neq F_{FxF}$ . The

critical value of the tests was approximated (Anděl 1993). The level of the tests was adjusted using the Bonferroni correction.

## Results

### Reproductive characteristics

Both the wild and farmed fish matured in the same period, during all the years under study. In the course of two artificial propagations carried out in 2 week interval (October 30 - November 15).

Body lengths and spawning weights of farmed fish were significantly higher than wild fish in 2003 and 2004. ANCOVA showed no differences between wild and farmed fish in weight of eggs per female and total fecundity in any year. The same results were found for relative fecundity. Significantly higher egg diameter (4.57 mm,  $P=0.001$ ) and weight (69.3 mg,  $P=0.0375$ ) were found in wild population in 2002 and conversely in 2004, the mean egg weight was higher in farmed population (94.7 mg,  $P=0.0021$ ). Differences in egg diameter in this year ( $4.64 \pm 0.06$  and  $4.82 \pm 0.06$  in wild and farmed trouts, respectively) showed to be close to the level of significance ( $P=0.079$ ) (Table 1).

Mutual correlations of the traits studied were similar in both populations. Weight of eggs per female ( $W_E$ ) and total fecundity ( $T_F$ ) were slightly more dependent on spawning weight (SW) of fish than on standard length (SL) in the farmed population ( $W_E:SW$   $r = 0.9556$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0.0001$  and  $W_E:SL$   $r = 0.9291$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0.0001$ ;  $T_F:SW$   $r = 0.9440$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0.0001$  and  $T_F:SL$   $r = 0.8962$ ,  $n = 90$ ,  $P < 0.0001$ ), whilst in the wild population it was the opposite ( $W_E:SW$   $r = 0.7736$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0.0001$  and  $W_E:SL$   $r = 0.8012$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0.0001$ ;  $T_F:SW$   $r = 0.5067$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0.0001$  and  $T_F:SL$   $r = 0.5586$ ,  $n = 83$ ,  $P < 0.0001$ ). On the other hand, egg diameter, egg weight and relative fecundity were more dependent on standard length in the farmed population and the spawning weight in the wild population (Fig 1).

### Biological quality of eggs

Altogether 4.5 %, 0.6 % and 2.2 % eggs died in the egg batches  $W \times W$ ,  $F \times W$  and  $F \times F$ , respectively, from stocking the eggs in trays (November 2, 2002) until the eye-spot stage (February 5, 2003; 284 D.D. since the beginning of incubation in all egg batches). Mean water temperature at the hatchery ranged in  $3.0 \pm 1.5$  °C in this period. Fry hatched in the same period from all egg batches (March 27 - April 2, 2003), i.e. in 355 - 380 D.D. from the beginning of incubation. Hatching was terminated (100 % hatched fry) in all batches on April 2. Altogether 1.8 %, 5.2 % and 3.2 % eggs and freshly hatched larvae died in  $W \times W$ ,  $F \times W$  and  $F \times F$  batches, respectively, since the eyed stage. Figure 2 illustrates means of mortality of the starving fry in individual groups. Last specimens of all groups died on June 3, 2003 (558 D.D. since the end of hatching). Mean water temperature at the hatchery attained in  $8.9 \pm 3.6$  °C during the period from hatching until the death of the last specimens.

The comparison of distribution of fry deaths in different matings according to KS test had the following values:  $D_{W \times W, F \times F} = 0.198$ ,  $D_{F \times W, F \times F} = 0.119$ ,  $D_{W \times W, F \times W} = 0.143$ . The estimated critical value was  $D_{300, 300}^* (0.01667) = 0.1263$ . Number of cases in each group was 300, the adjusted level of the test was 0.01667. On the base of results, statistical differences between  $F_{W \times W}$  versus  $F_{F \times F}$  and  $F_{W \times W}$  versus  $F_{F \times W}$  mating were found. Cumulative mortality of the  $W \times W$  fry was higher in comparison with  $F \times W$  and  $F \times F$  during 110. - 112. days of the experiment. Contrary cumulative mortalities of the  $F \times W$  and  $F \times F$  were higher during 115. - 117. days of the experiment (Fig. 1).

## Discussion

Farmed spawners matured at age of 2 - 4 years and the majority of them matured in the 3rd year. Estay et al. (2004) found the same results with farmed brown trout under the Chilean

aquaculture conditions. The age at which the farmed fish gained maturity did not differ from natural conditions (Taube 1976, Lusk 1968a). Reproduction of the farmed fish annually occurred in November, which was usual period under conditions corresponding to this latitude on the northern hemisphere (Pender & Kwak 2002). Reproductive period of the farmed fish totally corresponded to that of the reference wild population.

Values of total fecundity and relative fecundity registered in both wild and farmed fish in individual years were in accordance with usual values found for the brown trout (Garcia & Brana 1988, Lusk 1968b).

Weight of eggs per female and total fecundity were found to be strongly related to the standard length and spawning weight. A stronger relationship was found with spawning weight in farmed fish, while for wild fish a stronger relationship was found with standard length. Stronger relationships were found for farmed fish. Considering the other parameters (egg diameter, egg weight, relative fecundity), relationships to size parameters of the broodstock were also proven but not so unequivocally as in the previous cases (Fig. 1). It can be generally said that in these parameters, stronger relationships with standard length were found for farmed fish and that values of the correlation coefficient for spawning weight were similar for both populations. Similar relationships of reproductive parameters with the size of brood fish were already proven in papers of many authors (McFadden et al. 1965, Bagenal 1969, Ojanguren et al. 1996, L'Abée-Lund & Hindar 1990, Lobon-Cervia et al. 1997).

Due to the observed important relationships of fecundity parameters to the size of brood fish and due to differences in size between farmed fish and reference wild fish, parameters to be compared between the groups were statistically corrected to the same level of standard length. Statistically significant differences among the corrected values of total fecundity, relative fecundity, egg diameter and egg weight, gained within the groups of farmed fish and wild fish were found in the respective years only in few cases in parameters related to the egg size (Table 1). It can be concluded from the data collected that the conditions of brown trout farming did not significantly affect the reproductive traits studied.

The goal of the experiments dealing with testing the quality of eggs was to assess if the brood fish farming leads to any decrease in gamete quality followed by decreased viability of their progeny. Many authors state for various salmonids that fry survival depends on egg size (Bagenal 1969, Ojanguren et al. 1996). Similarly, size of the fry which is closely associated with its survival, also correlates positively to egg size. It has been established that fry survival depends on egg size only during the period of yolk sac absorption and during the first few weeks of exogenous nutrition (Hutchings 1991, Springate & Bromage 1985, Einum 2003). In our experiment, the mean size of the eggs of 3-year-old farmed fish (F) was slightly smaller than that of wild fish (W) of a similar body size (Table 1). Surprisingly, egg fertilization rate, assessed by the number of dead eggs per batch until the eyed-ova stage, was lower in WxW batch (95.5 %) if compared to FxW (99.4 %) and FxF (97.8 %) batches. On the contrary, since the eye-spot stage till the end of hatching, the least eggs and freshly hatched larvae died in the WxW batch (1.8 %) while the losses were slightly higher in the other batches (FxW 5.2 %, a FxF 3.2 %). Duration of egg incubation of wild females and farmed females was the same (355 – 380 D.D.). Mean weight of hatched fry of wild females (WxW)  $67.0 \pm 7.08$  mg was slightly higher compared to that of farmed females (FxW  $63.6 \pm 5.24$  mg and FxF  $63.3 \pm 5.36$  mg). This was probably due to the larger size of eggs of wild fish (Fowler 1972, Beacham et al. 1985). There is no correlation between eggs quality (i.e. fertilization and hatching success) and biochemical parameters of the eggs (dry matter, protein, peptides, fructose, galactose, glucose, lipids, fatty acid composition, etc.) (Trippel et al. 2000, Lahnsteiner et al. 2001) and therefore the quality of the eggs was assessed after emerging by checking the daily mortality of starving fry until all stock had died. The pattern of starving fry mortality was very similar in all groups tested. Mortality of fry in the groups



during the first 55 days post hatching (450 D.D. since hatching) attained several individuals per week. On May 26 (56 days after hatching) there was a sudden increase in the mortality rate in all groups. During this period the fry probably depleted nutrients from yolk sac. Despite the statistical analysis of cumulative mortality, which showed a slightly different course in WxW group compared to the crosses, differences between the progeny of farmed- and wild fish were minimal. This was also supported by the fact that the death of the last specimens occurred on the same day in all groups (day 63; 558 D.D. since hatching). It can thus be concluded that the farming conditions did not significantly affect the biological quality of eggs and the progeny. Jarrams (1979) also drew similar conclusions when considering the reproduction of farmed brood fish of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and sea trout (*Salmo trutta* L.) and in a quality assessment of their progeny. In contrast to this author, no lower fertilization rate was demonstrated for eggs of farmed fish. In the present case, the fertilization rate of eggs of farmed fish was even higher than those of wild fish.

The culture conditions thus did not significantly affect the reproductive parameters studied in the first generation of farmed brown trout brood stock. Farmed fish showed the same reproductive cycles as their wild counterparts. Experiments showed similar biological quality of eggs of the studied groups of fish. Neither the consecutive tests of development of fry, genetic analyses, nor the assessment of adaptability in nature conditions proved any significant differences between progeny of farmed females and equally old progeny of wild fish.

**Acknowledgments:** This study was supported by the USB RIFCH no. MSM6007665809 and by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic project no. QF3028. The authors of this paper gratefully thank to the Czech Anglers' Union for technical support.

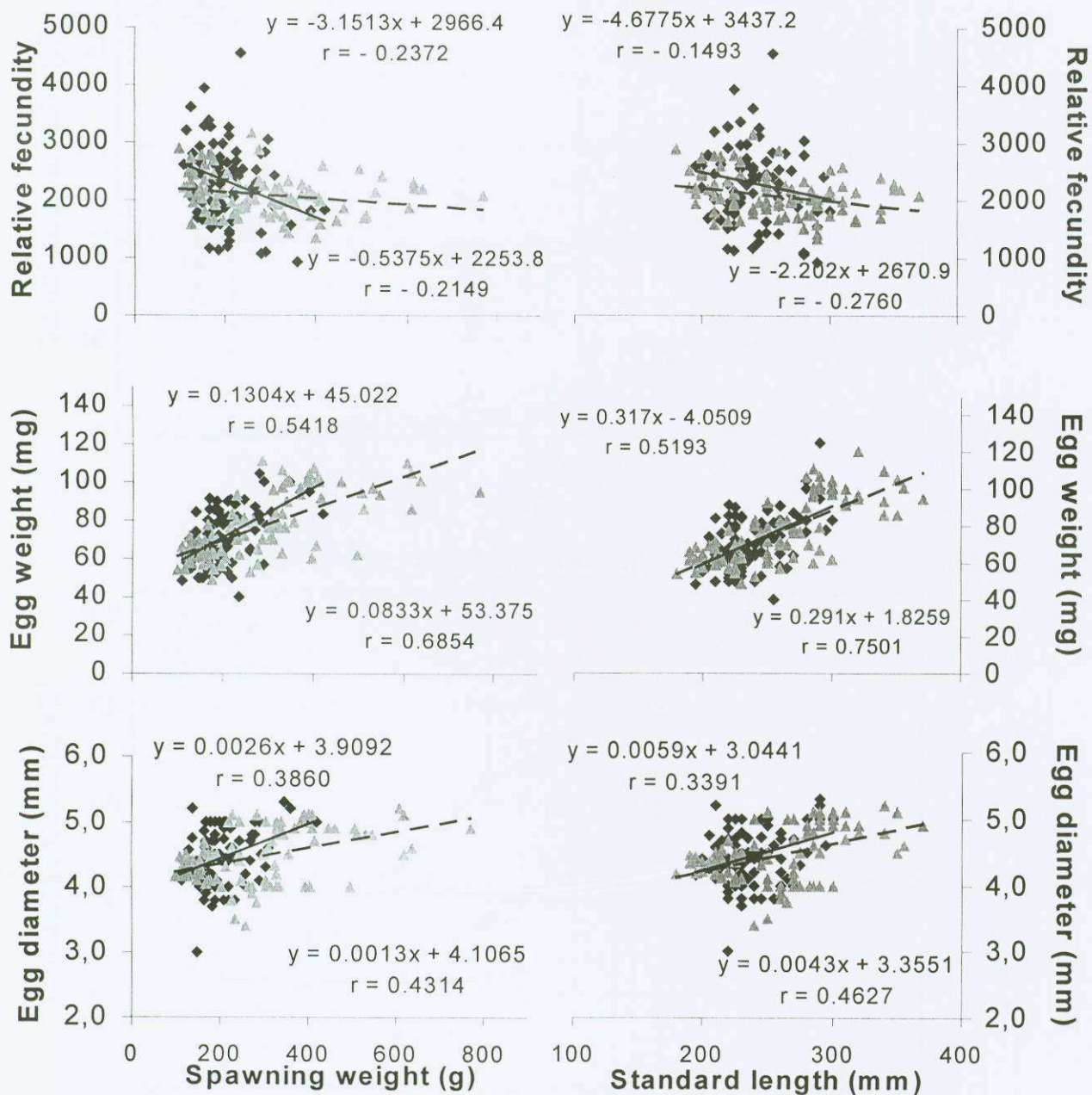
### Literature

- Anděl J. 1993: Statistic methods. *Matfyzpress, Praha*. (in Czech).
- Bagenal T.B. 1969: Relationship between egg size and fry survival in brown trout *Salmo trutta* L. *J. Fish. Biol.* 1: 349 – 353.
- Beacham T. D., Withler F. C. & Morley R. B. 1985: Effect of egg size on incubation time and alevin and fry size in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Can. J. Zool.* 63: 847-850.
- Berejikian B. A., Mathews S. B. & Quinn T. P. 1996: Effects of hatchery and wild ancestry and rearing environments on the development of agonistic behavior in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2004-2014.
- Berejikian B.A., Tezak E.P., Schroder S.L., Flagg T.A. & Knudsen C.M. 1999: Competitive Differences between Newly Emerged Offspring of Captive-Reared and Wild Coho Salmon. *T. Am. Fish. Soc.* 128 (5): 832-839.
- Deverill J.I., Adams C.E. & Bean, C.W. 1999: Prior residence, aggression and territory acquisition in hatchery-reared and wild brown trout. *J. Fish. Biol.* 55: 868 – 875.
- Einum S. 2003: Atlantic salmon growth in strongly food-limited environments: Effects of egg size and paternal phenotype? *Environ. Biol. Fish.* 67: 263-268.
- Einum S. & Fleming I. A. 2001. Implications of stocking: Ecological interactions between wild and released salmonids. *Nordic Journal of Freshwater Research* 75: 56-70.
- Estay F.J., Noriega R., Ureta J.P., Martin W. & Colihueque, N. 2004: Reproductive performance of cultured brown trout (*Salmo trutta* L.) in Chile. *Aquac. Res.* 35: 447-452.
- Fleming I. A. & Gross M. R. 1990: Latitudinal clines: A trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology* 71: 1-11.

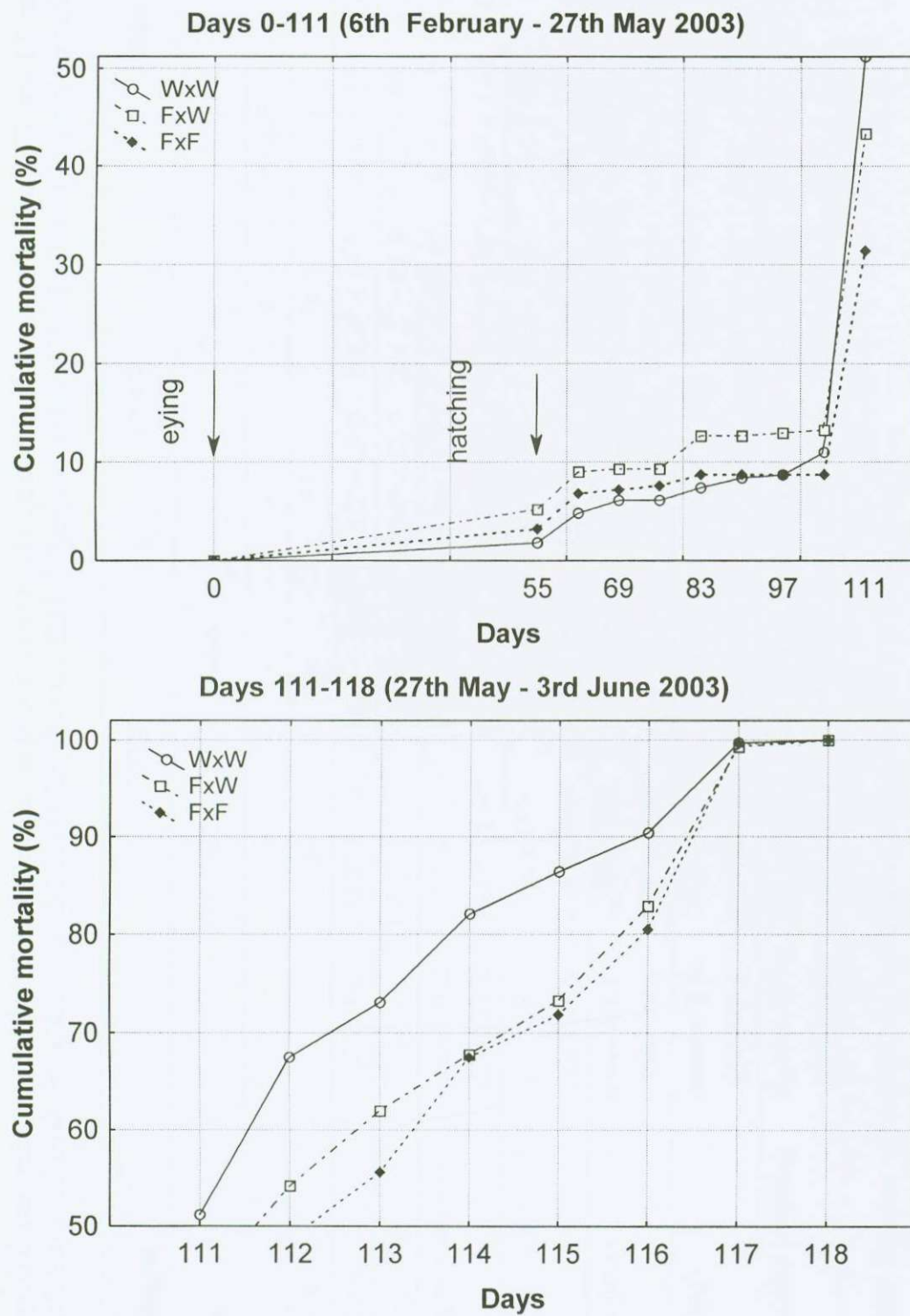
- Fleming I. A. & Gross M. R.: 1992. Reproductive behavior of hatchery and wild coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): does it differ? *Aquaculture* 103: 101-121.
- Fleming I. A. & Einum, S. 1997: Experimental tests of genetic divergence of farmed from wild Atlantic salmon due to domestication. *ICES Journal of Marine Science* 54: 1051-1063.
- Fowler L. G. 1972: Growth and mortality of fingerling chinook salmon as affected by egg size. *Progressive Fish Culturist* 34(2): 66-69.
- Garcia A. & Brana F. 1988: Reproductive biology of brown trout (*Salmo trutta* L) in the Aller river (Asturias; Northern Spain). *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 35, 361-373.
- Hutchings J.A. 1991: Fitness consequences of variation in egg size and food abundance brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Evolution* 45: 1162-1168.
- Jarrams P. 1979: Egg, fry and smolt production from salmon, *Salmo salar* L. and sea trout *Salmo trutta* L. reared entirely in fresh water. *J. Fish. Biol.* 15: 607-611.
- L'Abée-Lund J.H. & Hindar K. 1990: Interpopulation variation in reproductive traits of anadromous female brown trout, *Salmo trutta* L. *J. Fish. Biol.* 37: 755-763.
- Lahnsteiner F., Urbanyi B., Horvath A. & Weismann T. 2001: Bio-markers for egg quality determination in cyprinid fish. *Aquaculture* 195 (3-4): 331-352.
- Libosvářský J. 1967: The spawning run of brown trout, *Salmo trutta m. fario* L., and its analyses. *Folia Zool.* 16: 73-86.
- Lobon-Cervia J., Utrilla C.G., Rincón P.A. & Amezcua F. 1997: Environmentally induced spatio-temporal variations in the fecundity of brown trout *Salmo trutta* L.: Trade-offs between egg size and number. *Freshwater Biol.* 38: 277-288.
- Lusk S. 1968a: Sexual maturity, sex ratio and fecundity in the brown trout, *Salmo trutta m. fario* L., in the Loučka River. *Folia Zool.* 17: 253-268.
- Lusk S. 1968b: Egg and milt production in the brown trout (*Salmo trutta morpha fario* L.) in the Loučka Creek. *Folia Zool.* 17: 363-378.
- Lusk S. 1969: Changes in gonad weight and amount of fats in the brown trout, *Salmo trutta m. fario* L., in the course of a year. *Folia Zool.* 18: 67-80.
- McFadden J.T., Cooper E.L. & Andersen J.K. 1965: Some effects of environment on egg production in brown trout (*Salmo trutta*). *Limnol. Oceanogr.* 10: 88-95.
- Metcalf N. B., Valdimarsson S. K. & Morgan I. J. 2003: The relative roles of domestication, rearing environment, prior residence and body size in deciding territorial contests between hatchery and wild juvenile salmon. *J. Appl. Ecol.* 40: 535-544.
- Migaud H., Gardeur J.N., Fordoxcel L., Fontain P. & Brun-Bellut J. 2001: Influence of the spawning time during the reproduction period on the larval quality of euroasian perch, *Percha Fluviatilis*. *European Aquaculture Society, Special Publication No. 30*, Ostende, Belgium.
- Mousseau, T. A. & Fox, C. V. 1998: The adaptive significance of maternal effects. *Trends Ecol. Evol.* 13: 403-407.
- Ojanguren A.F., Reyes-Gavilan F.G. & Brana F. 1996: Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture* 147: 9-20.
- Pender D.R. & Kwak T.J. 2002: Factors influencing brown trout reproductive success in Ozark Tailwater Rivers. *T. Am. Fish. Soc.* 131: 698-717.
- Petersson E. & Järvi T. 1993: Differences in reproductive traits between sea-ranched and wild sea-trout (*Salmo trutta*) originating from a common stock. *Nordic Journal of Freshwater Research* 68: 91-97.
- Pitman R. W. 1979: Effects of female age and egg size on growth and mortality in rainbow trout. *Progressive Fish Culturist* 41: 202-204.
- Ruzzante D. E. 1994: Domestication effects on aggressive and schooling behavior in fish. *Aquaculture* 120: 1-24.

- Springate J.R.C. & Bromage R.E. 1985: Effects of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 47: 163-172.
- Swain D.P. & Riddell B.E. 1990: Variation in agonistic behaviour between newly emerged juveniles from hatchery and wild populations of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 566 – 571.
- Taube C.M. 1976: Sexual maturity and fecundity in brown trout of the Platte River, Michigan. *T. Am. Fish. Soc.* 105: 529-533.
- Trippel E.A., Castell J.D., Neil S.R.E. & Blair T.J. 2000: Assessment of egg quality of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in paired matings. *Reproductive Physiology of Fish.* 405-407.
- van den Berghe E. P. & Gross M. R. 1989: Natural selection resulting from female breeding competition in a Pacific salmon (coho: *Oncorhynchus kisutch*). *Evolution* 43: 125-140.
- Verspoor E. 1988: Reduced genetic variability in first-generation hatchery populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1686-1690.

**Figure 1** Comparison of correlations in wild (◆) and farmed (▲) population of brown trout females between spawning weight and egg size, egg weight and number of eggs per kg of b.w. and standard length and egg size, egg weight and number of eggs per kg of b.w. Estimated correlations are on the top of each graph for the wild and on the bottom for the farmed population.



**Fig. 2** Means of cumulative mortality of the brown trout eggs and unfed fry in tested groups. WxW - eggs from wild females fertilized by wild males milt; FxW - eggs from farmed females fertilized by wild males milt; FxF - eggs from farmed females fertilized by farmed males milt.



**Table 1.** Reproductive traits of wild and farmed females in brown trout with expression of mean values and SD and LS means  $\pm$  S.E. by ANCOVA with statistical analysis between populations within the year. Body length and spawning weight were compared by ANOVA.

Year of culture		2002		2003		2004	
Population		Wild	Farmed	Wild	Farmed	Wild	Farmed
Age (years)		3	3	4-5	4	4-5	5
Sample size (ps.)		24	30	33	31	30	30
Body length (mm)	ANOVA	222.3 <sup>a</sup> $\pm$ 15.6	213.6 <sup>a</sup> $\pm$ 18.8	245.3 <sup>a</sup> $\pm$ 25.0	261.4 <sup>b</sup> $\pm$ 16.7	247.0 <sup>a</sup> $\pm$ 21.8	308.2 <sup>b</sup> $\pm$ 27.6
Spawning weight (g)	ANOVA	167.5 <sup>a</sup> $\pm$ 31.4	155.8 <sup>a</sup> $\pm$ 39.6	229.8 <sup>a</sup> $\pm$ 73.7	291.3 <sup>b</sup> $\pm$ 66.9	214.2 <sup>a</sup> $\pm$ 50.1	432.7 <sup>b</sup> $\pm$ 123.2
Weight of eggs (g/female)	mean $\pm$ S.D.	23.9 $\pm$ 7.9	21.6 $\pm$ 5.5	33.4 $\pm$ 13.5	42.5 $\pm$ 10.3	40.2 $\pm$ 11.7	84.5 $\pm$ 29.3
	ANCOVA	22.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.99	22.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.88	36.7 <sup>a</sup> $\pm$ 1.29	39.4 <sup>a</sup> $\pm$ 1.26	62.3 <sup>a</sup> $\pm$ 3.22	62.4 <sup>a</sup> $\pm$ 3.22
Total fecundity (eggs/female)	mean $\pm$ S.D.	350 $\pm$ 117	342 $\pm$ 80	493 $\pm$ 189	606 $\pm$ 178	534 $\pm$ 159	862 $\pm$ 303
	ANCOVA	333 <sup>a</sup> $\pm$ 16.7	350 <sup>a</sup> $\pm$ 14.9	528 <sup>a</sup> $\pm$ 28.8	571 <sup>a</sup> $\pm$ 28.2	747 <sup>a</sup> $\pm$ 41.7	649 <sup>a</sup> $\pm$ 41.7
Egg diameter (mm)	mean $\pm$ S.D.	4.57 $\pm$ 0,28	4.34 $\pm$ 0,16	4.20 $\pm$ 0,50	4.20 $\pm$ 0,43	4.60 $\pm$ 0,30	4.89 $\pm$ 0,18
	ANCOVA	4.57 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05	4.34 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	4.29 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	4.16 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	4.64 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	4.82 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06
Egg weight (mg)	mean $\pm$ S.D.	69 $\pm$ 10.8	63 $\pm$ 6.5	69 $\pm$ 18.0	72 $\pm$ 9.0	77 $\pm$ 13.0	99 $\pm$ 8.0
	ANCOVA	68.6 <sup>b</sup> $\pm$ 1.78	63.4 <sup>a</sup> $\pm$ 1.58	71.0 <sup>a</sup> $\pm$ 2.52	69.8 <sup>a</sup> $\pm$ 2.48	80.7 <sup>a</sup> $\pm$ 2.55	94.7 <sup>b</sup> $\pm$ 2.55
Relative fecundity (eggs/kg female)	mean $\pm$ S.D.	2099 $\pm$ 536.0	2237 $\pm$ 410.3	2219 $\pm$ 782.4	2095 $\pm$ 330.4	2583 $\pm$ 832.8	1979 $\pm$ 303.0
	ANCOVA	2127 <sup>a</sup> $\pm$ 95.8	2194 <sup>a</sup> $\pm$ 85.3	2184 <sup>a</sup> $\pm$ 113.0	2129 <sup>a</sup> $\pm$ 111.0	2427 <sup>a</sup> $\pm$ 151.0	2135 <sup>a</sup> $\pm$ 151.0

a,b - values with the same superscript did not differ significantly ( $P < 0.05$ ) within the year.