

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**  
**KATEDRA RYBÁŘSTVÍ**

**Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství**

**Studijní obor: Rybářství**

**Hormonálně indukovaný umělý výtěr a inkubace  
jiker parmy obecné (*Barbus barbus*)**

**Vedoucí diplomové práce**  
**doc. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.**

**Autor**  
**Jiří Hájek**

**2007**

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

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jiří HÁJEK**  
Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Hormonálně indukovaný umělý výtěr a inkubace jiker  
parmy obecné *Barbus barbus***

### Zásady pro vypracování:

Cílem práce je optimalizovat způsob hormonální indukce ovulace parmy obecné původem z chovu v kontrolovaných podmínkách i odlovené z řeky pomocí hormonálních přípravků na bázi funkčních analogů GnRH spolu s dopaminergním inhibítozem (nebo bez něho). Metodický postup spočívá ve zjištění optimální výše dávky pro injekční aplikaci při použití jednotlivých přípravků ve srovnání s kapří hypofýzou, obsahující účinnou látku gonadotropin (GtH). V další fázi budou vybrané způsoby hormonální stimulace použity při různých teplotách vody, v rámci fyziologického rozpětí. Sledovány a hodnoceny budou: počet (%) ovulujících, resp. úspěšně uměle vytřených jikernaček, průměrná hmotnost jedné vytřené jikry, relativní hmotnost vytřených jiker (vzhledem ke hmotnosti jikernačky před výtěrem), absolutní a relativní plodnost, oplozenou jiker a % vylíhnutého plůdka. Dále bude optimalizováno odlepkování oplozených jiker, studována citlivost k antimykotickým koupelím a vliv teploty na délku inkubační doby a líhivost jiker. Pokusy budou prováděny v rámci řešení výzkumného záměru Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech.

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

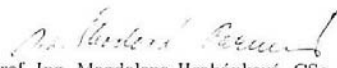
Seznam odborné literatury:

- Kouřil, J., Filla, V., Šandera, K., Barth, T., Flegel, M. 1988. Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček parmy obecné *Barbus barbus* L. pomocí kapří hypofýzy a analogu LH-RH. Bul. VÚRH Vodňany, 24(3):18-25.**  
**Krupka, I. 1985. Umelé rozmnožovanie a odchov plodika mreny obyčajnej *Barbus barbus* /Linnaeus 1758/. Práce LRH Bratislava, 5: 173-197.**  
**Philippart, J.C., Melard, Ch., Poncin, P. 1987. Intensive culture of the common barbel, *Barbus barbus* for restocking. In: Proc. of Aquaculture Europe, 87: 1-13.**  
**Peňáz, M. 1973. Embryonic development of the *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758). Folia Zoologica, 22(4): 363-374.**

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jan Kouřil, Ph.D.**  
Katedra rybářství


Konzultant diplomové práce: **Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.**  
Katedra rybářství

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2005**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2007**

  
prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.  
děkanka

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení (4)  
Studentská 13  
370 05 České Budějovice

L.S.

  
doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 15. března 2005

## **Prohlášení**

Tímto prohlašuji, že předloženou diplomovou práci na téma Hormonálně indukovaný umělý výtěr a inkubace jiker paryby obecné (*Barbus barbus*) jsem vypracoval samostatně a že všechny použité prameny uvedené v seznamu použité literatury jsou správně a úplně citovány.

V Českých Budějovicích dne 20. dubna 2007

Jiří Hájek

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. a dále Ing. Tomášovi Polícarovi, Ph.D. (oba VÚRH JU Vodňany), RNDr. Tomislavu Barthovi, DrSc. (ÚOChB AV ČR Praha), vedoucímu rybí líhně v Třebíči Ing. Jiřímu Mižďochovi a jeho spolupracovníkům za vřelou pomoc a cenné rady při zpracování diplomové práce.

Pokusy byly realizovány s podporou výzkumného záměru VÚRH JU Vodňany (MSM 6007665809) a projektů NAZV (QF3028 a QF 3029).

## OBSAH

1. Úvod.....	7
2. Literární přehled.....	8
2.1. Biologie parmy obecné.....	8
2.1.1. Systematika.....	8
2.1.2. Popis ryby.....	8
2.1.3. Výskyt.....	9
2.1.4. Potrava a růst.....	9
2.1.5. Rozmnožování.....	10
2.2. Umělý výtěr ryb.....	11
2.2.1. Hormonální řízení reprodukce ryb.....	11
2.2.2. Historie hormonálně indukovaného umělého výtěru ryb.....	15
2.2.3. Umělý výtěr parmy obecné.....	17
2.3. Anestézie.....	19
2.3.1. Anestézie a její fáze.....	19
2.3.2. Charakteristika aplikovaného anestetika hřebíčkový olej.....	21
2.4. Antimykotické koupele jiker.....	22
3. Metodika a materiál.....	25
3.1. Generační materiál.....	25
3.2. Vlastní metodika.....	25
3.3. Aplikované preparáty.....	30
3.3.1. Hormonální preparáty.....	30
3.3.2. Antimykotické preparáty.....	32
4. Výsledky.....	33
4.1. Hormonálně indukovaný umělý výtěr.....	33
4.2. Antimykotické koupele jiker.....	41
5. Diskuze.....	43
5.1. Hormonálně indukovaný umělý výtěr.....	43
5.2. Antimykotické koupele jiker.....	45
6. Závěr.....	47
7. Seznam použité literatury.....	48
8. Přílohy	

## 1. ÚVOD

Parma obecná (*Barbus barbuis* (Linnaeus, 1758)) je v České republice původně se vyskytujícím reofilním rybím druhem. Parmové pásmo, jak již název tohoto rybího pásma pojmenovaného českým zoologem Antonínem Fričem v roce 1871, dává najevo, že v těchto úsecích vodních toků se štěrkopísčitém až kamenitým dnem je parma zcela typickým druhem.

V posledních zhruba třech desítkách let došlo k výraznému úbytku tohoto zástupce naší ichtyofauny. Neblahý vliv na tento znepokojující a alarmující fakt má antropogenní činnost. Například je to výstavba vodních děl, devastace přirozených výtěrových trdlišť nebo znečišťování vodních toků. Je proto nezbytně nutné pomoci k návratu parmy do našich volných vod. Jako vhodná možnost pomoci se jeví umělý výtěr a následná produkce plůdku a násad.

Cílem diplomové práce byla optimalizace způsobu hormonální indukce ovulace jikernaček parmy obecné odlovených z řeky. Použito bylo hormonálních přípravků na bázi funkčních analogů GnRH spolu s dopaminergním inhibítozem nebo bez něho. Jednalo se o přípravek Supergestran, který obsahuje účinnou látku Lecirelin, dále pak o maďarský preparát Ovopel a izraelský přípravek Dagin. Ke kontrole byla použita kapří hypofýza. Vyhodnocovány byly tyto parametry: procento vytřených jikernaček, délka intervalu latence, absolutní a relativní pracovní plodnost, průměrná individuální hmotnost jikry a oplozenost jiker. Jako generační materiál nám posloužily pohlavně dospělí jedinci parmy obecné odlovení elektrickým agregátem zaměstnanci MO MRS Třebíč v řece Jihlavě, respektive v řece Svatce.

Dále byly realizovány experimenty s antimykotickými koupelemi jiker v roztoku Jodisolu a Aquahumu. Jikry na tyto experimenty byly získány z umělých výtěrů parem chovaných v kontrolovaných podmínkách prostředí ve VÚRH JU Vodňany.

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

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Biologie parmy obecné

#### 2.1.1. Systematika

Parma obecná (*Barbus barbus*) je v zoologickém systému začleněna následovně (Baruš *et al.*, 1995):

Třída: Ryby (*Osteichthyes*)

Nadřád: Kostnatí (*Teleostei*)

Řád: Máloostní (*Cypriniformes*)

Podřád: Kaprovci (*Cyprinoidei*)

Čeleď: Kaprovití (*Cyprinidae*)

Rod: Parma (*Barbus* Cuvier, 1817)

Druh: Parma obecná (*Barbus barbus* (Linnaeus, 1758))

#### 2.1.2. Popis ryby

Celková délka těla dosahuje až 85 cm (Baruš *et al.*, 1995). Čihař (1978) uvádí maximální délku 1 m. Parma má protáhlé štíhlé tělo s rovnou břišní linií a jen nepatrně vyklenutým hřbetem. Rypec je chobotovitě prodloužený. Ústa s tlustými masitými pysky mají spodní postavení. Na horním pysku se vyskytují dva od sebe vzdálené páry vousků. Přední pár vousků je kratší než zadní (Terofal, 1997). Hřbet je olivově zelený, boky nazelenalé nebo nazlátlé a břicho běložluté. Párové ploutve bývají načervenalé. V postraní čáře se nachází (54) 58 - 62 (66) šupin střední velikosti. Počet šupinných řad nad postranní čarou je 12 - 14, pod ní pak 7 - 9 řad. V obloukovitě vykrojené hřbetní ploutvi jsou 3 - 4 tvrdé a 8 měkkých paprsků, v prsní ploutvi 1 tvrdý a 16 - 18 měkkých paprsků, v břišní ploutvi 2 tvrdé a 8 měkkých paprsků, v řitní ploutvi 2 - 3 tvrdé a 5 měkkých paprsků. Ocasní ploutev je často asymetrická, její dolní lalok bývá delší než horní a je složena z 19 měkkých paprsků. Vzorec třířadých požerákových zubů je 2.3.5. - 5.3.2. (Baruš *et al.*, 1995).

Pohlavní dimorfismus je nevýrazný. Dle Vladykova (1931) a Olivy (1955) jsou u samic prsní a řitní ploutve mírně kratší než u samců. Dorko (1963) naopak uvádí, že samice mají všechny ploutve delší. Krupka (1987) se zmiňuje o objemnější břišní dutině u jikernaček



v době výtěru a o vzrůstovém pohlavním dimorfismu - jedinci s celkovou délkou přesahující 40 cm jsou vesměs jikernačky.

### 2.1.3. Výskyt

Areál výskytu se rozprostírá v západní a střední Evropě a v jižní Anglii. Parma obecná zcela chybí v Irsku, Skotsku, Dánsku a Skandinávii (Terofal, 1997). Vyskytuje se po celém území České republiky, výstavba vodních děl měla ovšem za následek zdecimování některých typických parmových pásem (například vltavská kaskáda údolních nádrží) (Baruš *et al.*, 1995). Lusk (1996) připomíná, že je parma obecná v současné době ve střední Evropě označována za ohrožený rybí druh.

Parma obývá proudivé dobře prokysličené úseky podhorských a nížinatých toků, vyhýbá se úsekům s bahnitým dnem a dává přednost místům s kamenitým a balvanitým dnem. Z parmového pásma, charakteristického pro tento druh, vytahuje i do spodních úseků lipanového pásma. Také výjimečně sestupuje do horních úseků pásma cejnového. Příkladem typického parmového pásma s dominantním výskytem parmy obecné je řeka Jihlava u Hrubšic (Baruš *et al.*, 1995). Šlechtová *et al.* (1998) uvádí, že se v parmovém pásmu v nezanedbatelném množství vyskytují rybí druhy jako podoustev říční (*Vimba vimba*), ostroretka stěhovavá (*Chondrostoma nasus*), jelec tloušť (*Leuciscus cephalus*) a hrouzek obecný (*Gobio gobio*). Parma se zdržuje u dna a pod kameny. Vyznačuje se převážně noční aktivitou. Jedná se o společenskou rybu a často, zejména ve výtěrovém období se shlukuje v početná hejna a migruje proti proudu na výtěrová trdliště. V zimním období sestupuje z proudných úseků do níže položených míst, kde se shromažďuje v hlubších a mírně tekoucích lokalitách (Baruš *et al.*, 1995).

### 2.1.4. Potrava a růst

Dle Hochmana (1955) se v potravě parmy vyskytují všechny složky přirozených společenstev nacházejících se na dně toku. Převažují však larvy chrostíků, pošvatek a jepic, nepohrdne ani měkkýši. Mezi vyhledávanou potravu také patří nárosty řas na kamenech.

Při získávání potravy ryje ve dně a obrací kameny, tak přijímá a zhodnocuje ty složky přirozené potravy, které jsou nedostupné pro ostatní druhy ryb (Baruš *et al.*, 1995).

Z výzkumu Havleny (1964) na Oravské údolní nádrži vyplývá, že se parma dožívá poměrně vysokého věku. Byli zde odchyceni jedinci staří až 16 let. Samice se běžně dožívají

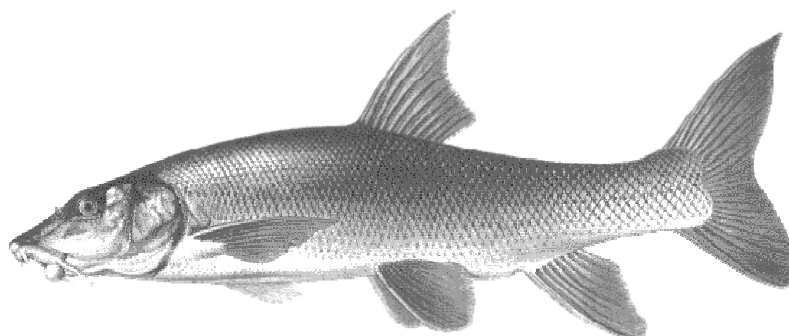
o 4 - 5 let vyššího věku než samci. Také rychlost růstu je u samic daleko vyšší než u samců (Hochman, 1955). Parma může dorůstat až do hmotnosti 25 kg (Hanel, 1992). Čihař (1978) se s tímto údajem neztotožňuje, uvádí maximální hmotnost o 10 kg nižší. Podle Baruše *et al.* (1995) byla dosud největší parma v ČR ulovena v Labi u Ústí nad Labem (celková délka 84 cm, váha 5,57 kg, rok ulovení 1974) a prozatím nejtěžší parma byla ulovena ve Svratce (celková délka 72 cm, váha 5,58 kg, rok ulovení 1974). Hanel (1992) udává jedince uloveného v Dyji v roce 1979 o délce 86 cm a hmotnosti 5,6 kg. Stejný autor se dále zmiňuje o kusu uloveném v Odře v roce 1981 o délce 73 cm a hmotnosti 6,15 kg.

Pohlaví	Počet jedinců (ks)	Průměrná délka těla (mm) ve věku (roky)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
♂	213	58	93	125	152	178	200	217	237	250	-	-	-
♀	137	60	95	131	166	198	226	275	330	379	417	457	498

Tab. 1: Délkový růst parmy obecné v řece Jihlavě (Peňáz, 1977).

### 2.1.5. Rozmnožování

Parma je typický představitel litofilních druhů ryb, které neukrývají jikry. Vytírá se od května do začátku července v jedné, většinou ve více dávkách (porcích) na kamenité dno mělčích (0,5 - 0,7 m) úseků řek při teplotě vody 15 - 18 °C (Baruš *et al.*, 1995). Jikernačky pohlavně dospívají v 5 - 6 letech života, kdy dosahují 30 - 35 cm. Mlíčáci dospívají o 2 - 3 roky dříve (Krupka, 1987). Relativní plodnost se pohybuje v rozmezí 35 - 60 tis. kusů jiker na 1 kg hmotnosti jikernačky (v první dávce 10 - 30 tis. kusů na 1 kg). Jikry mají žluté zabarvení, jsou mírně lepivé a průměrně měří 1,9 mm před nabobtnáním a 2,9 mm po nabobtnání. Inkubace jiker trvá kolem 130 d° (Dubský *et al.*, 2003).



Obr. 1: Parma obecná (*Barbus barbus* L.).

## 2.2. Umělý výtěr ryb

### 2.2.1. Hormonální řízení reprodukce ryb

Poloumělý a umělý výtěr s využitím hormonální indukce ovulace a spermiace ryb patří v současné době k běžně využívaným metodám řízeného rozmnožování hospodářsky významných, sportovně využívaných, okrasných, akvarijních a v neposlední řadě také ohrožených druhů ryb.

Gonády (pohlavní orgány) jsou bifunkční orgány, které mají za úkol produkci zárodečných buněk a pohlavních hormonů. Mezi oběma funkcemi je velmi úzký vztah, neboť pro tvorbu a vývoj zárodečných buněk je potřeba relativně velká koncentrace pohlavních hormonů. Ovária (vaječníky) produkují ovocyty a pohlavní hormony estrogeny a progesteron, testes (varlata) produkují spermatozoa a testosteron (Murray *et al.*, 1998).

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

kostnatých ryb (Khan a Thomas, 1992). Existují dva rozdílné gonadotropní hormony (GtH), jedná se o GtH-I a GtH-II, oba jsou produkovány hypofýzou, účinkují při stimulaci syntézy DNA v gonádách a při biosyntéze steroidů. Přítomnost GtH-I je spojena s raným vývojovým stádiem a GtH-II se uplatňuje v průběhu dozrávání (Swanson, 1991). V průběhu gametogeneze a vitellogeneze odpovídají vaječníky na stimulaci gonadotropiny (GtH) produkcí  $17\beta$ -estradiolu ( $E_2$ ) a testosteronu (T). Estradiol ( $E_2$ ) stimulující jaterní syntézu vitelogeninu je aktivně transportován do zvětšujících se ovocytů s pomocí gonadotropinu (GtH) (Specker a Sullivan, 1994). Testosteron není v řídicí roli, ale jeho úroveň v plazmě odráží vyváženost mezi syntetizovaným testosteronem a množstvím, které je přeměňováno na  $17\beta$ -estradiol. Na začátku závěrečného dozrání ovocytů (FOM) dochází k prvnímu snížení hladiny  $17\beta$ -estradiolu ( $E_2$ ), pak je produkován testosteron (T) a dochází k dozrání indukujícího steroidu (MIS)  $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one ( $17\alpha,20\beta$ P) nebo  $17\alpha,20\beta,21$ -trihydroxy-4-pregnen-3-one ( $20\beta$ S), oba působí na závěrečné dozrání ovocytů (Thomas, 1994). U většiny testovaných druhů ryb se objevují prostaglandiny (PGS) produkované ve folikulech jako odpověď na gonadotropin (GtH-II) (Goetz *et al.*, 1991).

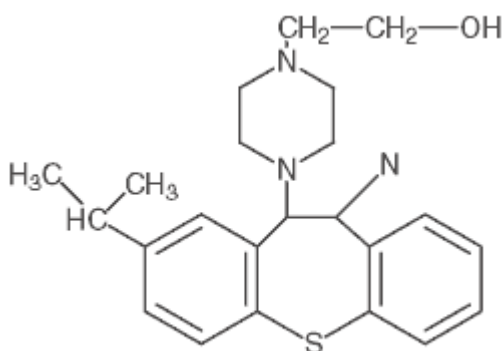
Steroidní hormony mají doplňkový vliv na vaječníky a játra. U ovariálních steroidů se také projevuje účinek zpětné vazby na mozek a hypofýzu. Ukazuje se, že testosteron a estrogeny u řady druhů mohou stimulovat syntézu GtH v hypofýze (Linard *et al.*, 1995). To je idea hlavního účinku hypofýzy pomocí pulzu předovulačního GtH-II, který následně stimuluje syntézu steroidů indukujících dozrávání (MIS). Testosteron a  $E_2$  mají také negativní zpětnou vazbu pomocí účinku při vyvolání zvratu pomocí DA v průběhu raného vývoje při dozrávání. Také toto je důkazem steroidního ovlivňování biosyntetické aktivity neuronů produkujících spouštěcí hormony gonadotropinu (GnRH), kvůli možnému účinku dalších neurohormonů (Trudeau *et al.*, 1991).

Mlčáci mají na rozdíl od jikernaček nízkou aktivitu aromatázy, nebo se u nich vůbec nevyskytuje. Hlavními steroidními produkty v průběhu gametogeneze jsou testosteron a jeho derivát 11-keto-testosteron (11-KT). Testosteron odpovídá za regulaci gametogeneze a 11-KT stimuluje vývoj druhotných pohlavních znaků. Oba mají také vliv na modulování různých projevů reprodukčního chování (Pankhurst, 1995).

Hormonální indukci ovulace u jikernaček a spermiace u mlčáků je možné provést aplikací přirozených spouštěcích hormonů gonadotropinů (GnRH), nebo častěji jejich superaktivními analogy (GnRH<sub>a</sub>) s rapidně nižšími dávkami. Synteticky vyrobené hormony, ale i jejich analogy (Kobarelin, Lecirelin), které mají vyšší stabilitu a účinnost, liší se záměnou aminokyseliny glycin (Gly) na pozici 6 a zároveň je zkrácena jejich

karboxyterminální část, byly již v praxi mnohokrát odzkoušeny. Například Kouřil a Hamáčková (1996) uvádí pozitivní výsledky ve svém příspěvku zabývajícím se hormonálně indukovaným umělým výtěrem jikernaček lína obecného (*Tinca tinca* L.) za použití superaktivních syntetických analogů GnRH ve srovnání s kapří hypofýzou. Naopak zcela negativního výsledku dosáhl stejný tým autorů Kouřil a Hamáčková (1998 a) při pokusu s jikernačkami jelce jesena (*Leuciscus idus* L.). K úspěšné ovulaci došlo, krom jedné jikernačky, u všech jedinců injikovaných kapří hypofýzou. U skupiny jikernaček, kterým byl injikován pouze fyziologický roztok a u třech skupin, kterým byl aplikován v jedné dávce analog (D-Ala<sup>6</sup>) GnRH ProHNEt v dávkách 50, 10 a 2  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  nedošlo k ovulaci u žádné z jikernaček.

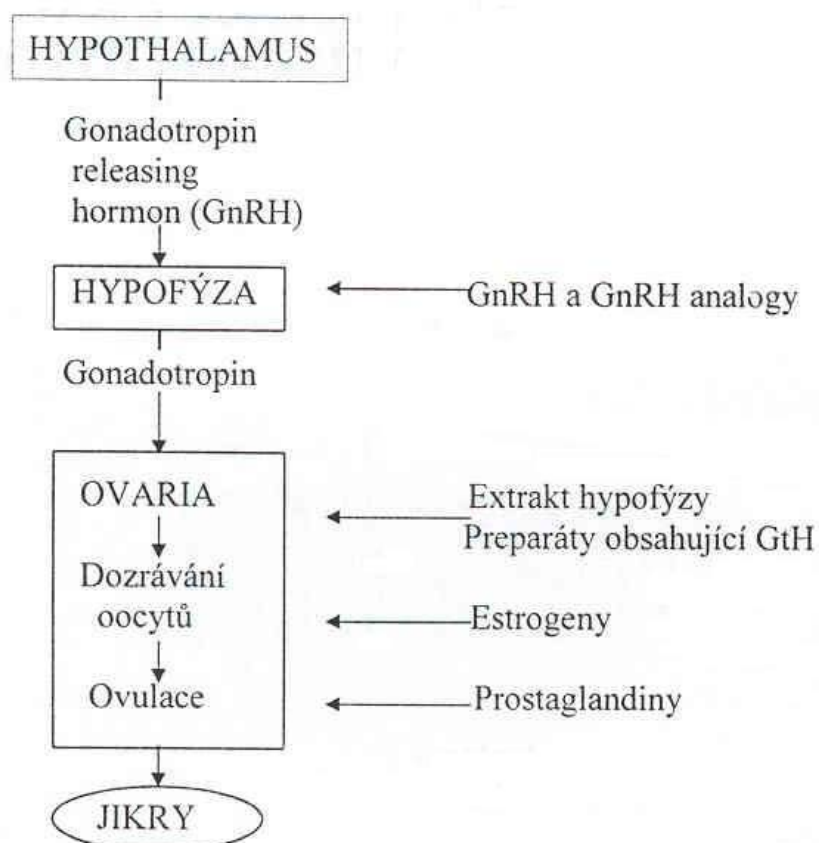
V některých případech může řízená reprodukce selhávat při podání samotných syntetických analogů GnRH ke stimulaci produkce nativního GtH. To ale může být eliminováno použitím metody společného podání GnRH, respektive GnRHa spolu s dopaminergním inhibítoem k zablokování jejich tonického účinku. U druhů, u nichž tento způsob indukce ovulace není účinný (například u kapra), přichází v úvahu současné použití analogů GnRH s některým z dopaminergních inhibitorů (například Isofloxythepin) (Barthová *et al.*, 2000). Dobré výsledky v reprodukční manipulaci dává také využití spouštěcího hormonu gonadotropinu v různém způsobem protražované formě (pomalu se uvolňující látka obsažená v peletách zavedených jednoduchým způsobem pod kůži či do svaloviny). Toto je používaný způsob k vyvolání ovulace u ryb které dokončily vitellogenezi, ale nedokáží podstoupit závěrečné dozrání ovocytů (FOM) nebo hydrataci spermatu u mlíčáků (Pankhurst, 1994).



Obr. 2: Strukturální vzorec Isofloxythepinu (Anonymus, 2003).

STRUKTURA PŘIROZENÝCH GnRH A NĚKTERÝCH JEJICH FUNKČNÍCH ANALOGŮ										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Savčí GnRH</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	GlyNH <sup>2</sup>
<b>Savčí GnRH analog (KOBARELIN)</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Ala <sup>6</sup>	Leu	Arg	NHEt	
<b>Savčí GnRH analog (LECILERIN)</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Tle <sup>6</sup>	Leu	Arg	NHEt	
<b>Kuřecí I GnRH</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Gln	Pro	GlyNH <sup>2</sup>
<b>Kuřecí II GnRH</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Tyr	Pro	GlyNH <sup>2</sup>
<b>Lososí GnRH</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Trp	Leu	Pro	GlyNH <sup>2</sup>
<b>GnRH mihulovitých</b>										
	pGlu	His	Trp	Ser	Leu	Glu	Trp	Lys	Pro	GlyNH <sup>2</sup>

Tab. 2: Struktura přirozených GnRH a některých jejich funkčních analogů (dle různých autorů).



Obr. 3: Zjednodušené schéma hormonálního řízení ovulace u ryb (Kouřil *et al.*, 1999).

## 2.2.2. Historie hormonálně indukovaného umělého výtěru ryb

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

Již v letech 1930 - 1934 byly v Jižní Americe realizovány první pokusy s hormonální indukcí umělého výtěru živorodých halančíků za použití rybí hypofýzy obsahující účinnou látku gonadotropin (von Ihering, 1937). Hasler (1939) popisuje hormonální indukci ovulace dosaženou u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Gerbilskij (1941) se zmiňuje o výtěru jesetera hvězdnatého (*Acipenser stellatus*) dosaženého v Rusku aplikací dvou dílčích dávek hypofýzy. Počátkem padesátých let nastal v Číně významný rozvoj metody využívající hypofyzární injekce. Poprvé byla metoda použita u amura černého (*Mylopharyngodon piceus*) a tolstolobce pestrého (*Aristichthys nobilis*). Později následovaly i další druhy ryb, jako amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*) a kaprovité ryby (*Labeo rohita*, *Catla catla* a *Cirrhinus mrigala*) (Matty, 1985; Yaron, 1995). Na evropském kontinentu se především zásluhou ruských a maďarských vědců zavedla metoda hormonálně indukovaného umělého a poloumělého výtěru ryb, nejprve u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a později také u dalších rybích druhů (Tamás & Horváth, 1985; Horváth *et al.*, 1984, 1992). Jalabet *et al.* (1977), Kouřil *et al.* (1985) a Hulová *et al.* (1994) píší o izolaci a charakterizaci rybích i savčích gonadotropinů a možnostmi jejich využívání při indukovaném umělém výtěru ryb. Významnou etapou na přelomu šedesátých a sedmdesátých let byl objev spouštěcích faktorů (hormonů) gonadotropních hormonů. Tyto látky ať už v přírodní či později v syntetické podobě byly v sedmdesátých a osmdesátých letech poměrně rychle odzkoušeny a využívány v chovatelské praxi. Největší podíl na tomto měli vědci z Číny (Cooperative Team, 1975; The polypeptide group, 1976), kteří tyto látky využívali především k reprodukci kaprovitých druhů ryb.

U nás první impuls k využívání spouštěcích faktorů gonadotropních hormonů při indukci výtěru ryb dali Barth a Kouřil (1981), současně přiblížili dosavadní první kladné výsledky čínských autorů a dále zdůraznili možnosti budoucího širokého využití těchto hormonů při umělé reprodukci ryb. To se potvrdilo úspěšnou aplikací u lína obecného (*Tinca tinca*) (Kouřil *et al.*, 1981) a následně i u amura bílého (Kouřil *et al.*, 1982). Donaldson *et al.*

(1981) a van der Kraak (1983) se ve svých výzkumech zaměřili na užití spouštěcích hormonů při indukci ovulace a synchronizaci výtěru lososů. V osmdesátých letech byly provedeny první úspěšné pokusy u některých kaprovitých i jiných druhů ryb s náhradou kapří hypofýzy savčím spouštěcím hormonem gonadotropinem (*mGnRH*) (například u lína (Kouřil *et al.*, 1986)). Na rozdíl od lína nebylo při jednorázové aplikaci samotných superaktivních analogů GnRH jikernačkám kapra dosaženo dobrých výsledků (Kouřil *et al.*, 1982). Příčinou je inhibiční účinek dopaminu ovlivňující produkci gonadotropních hormonů (GtH) v adenohipofýze (Pankhurst, 1998). To způsobuje u některých druhů ryb (včetně kapra) po podání GnRH nebo jejich analogů nedostatečnou nebo žádnou hormonální odezvu. Eliminace tohoto jevu je právě možná současným injekčním podáním některého z dopaminergních inhibitorů spolu se superaktivním analogem GnRH. U kapra bylo jako dopaminergní inhibitor s pozitivními účinky ověřeno české neuroleptikum Isofloxythepin (Barth *et al.*, 2000). V devadesátých letech se na trhu objevily některé kombinované přípravky nazvané Ovaprim (Kanada), Aquaspawn (Jihoafrická repblik), Ovopel (Maďarsko) a Dagin (Izrael). Tyto výše uvedené preparáty vždy obsahují některý ze superaktivních analogů GnRH současně s některým z dopaminergních inhibitorů (Horváth *et al.*, 1997; Barth *et al.*, 2000). V Rusku byl vyvinut přípravek Nerestin (dodávaný v několika variantách, lišících se použitými druhy a dávkami GnRHa a dopaminergními inhibitory, které však nejsou v příbalovém letáku uvedeny). Jednotlivé varianty přípravku, označované jako Nerestin 1 až Nerestin 7, jsou určeny pro různé druhy, respektive skupiny druhů ryb. Komerčně vyráběný přípravek Nerestin je využíván v Rusku, na Ukrajině, v Moldávii a v Rumunsku (Motloch, 2006; Anonymus, 2007). Pozitivní výsledky při umělém výtěru kapra byly publikovány zejména při použití přípravku Ovopel (Horváth *et al.*, 1997). V Maďarsku, Polsku a ČR je v posledních několika letech v provozní líhňařské praxi při umělém výtěru kaprovitých, ale i dalších druhů ryb postupně zaváděn přípravek Ovopel. V nedávné době se objevily informace o přípravku Gonazon<sup>TM</sup>, použitým teamem francouzských, holandských a polských vědců k indukci a synchronizaci ovulace u lososa obecného, pstruha duhového a sivena alpského (Haffray *et al.*, 2005). Podle dostupných informací je Gonazon<sup>TM</sup> prozatím jediným preparátem, jenž obdržel atest pro aplikaci v zemích EU.



### 2.2.3. Umělý výtěr parmy obecné

První pokusy s umělým výtěrem spontánně ovulujících parem odlovených na trdlišcích byly zrealizovány v Itálii v roce 1922 (Löhofener, 1926) a o několik let později v Německu (Bürger, 1930). U nás byl první umělý výtěr přímo na trdlišti proveden Hochmanem (1963). Další kteří tuto metodu popisují jsou: Podubský a Štědranský (1967), Bodareu (1977), Vinklarčík (1977) a Krupka (1985). Princip této metody spočívá v odlovu a následném výtěru generačních ryb přímo na břehu toku. Pohlavní produkty jsou poté, každé zvlášť či smíchané, dopravovány na líheň. Vytřené ryby jsou vráceny zpět na místo odchyty. Bodareu (1977) uvádí, že v přirozených podmínkách řeky Dněstru má parma asynchronní typ vývoje gonád a porcový výtěr, ale že jikry dozrávají jen ve třech porcích, přičemž ve střední části toku, kde jsou příznivější podmínky, jsou vytírány všechny tři porce a v dolní části toku pouze první dvě a třetí porce je resorbována. Autor také udává výtěr první porce jiker ve střední části Dněstru na polovinu dubna až začátek května (při teplotách vody 13 - 17 °C) a ve spodní části Dněstru až na období května až června (při teplotách vody 14,6 - 19,2 °C). Vinklarčík (1977) se zmiňuje o ojedinělém případě, kdy docílil ovulace jikernačky umístěné po odlovu z řeky do laminátové nádrže za předpokladu vhodné regulace teploty vody. Na významný vliv teploty vody na výtěr parem v přirozených podmínkách upozorňuje na základě svých pozorování také Hochman (1963). Jakubowski a Jakucewicz (1986) zkoušeli přechovávat generační parmy ulovené před výtěrem v řece ve zvláštních klecích instalovaných v říčním toku. Generační ryby byly umístovány do jednotlivých sekcí odděleně podle pohlaví. Dosažené výsledky za tři roky pokusů nebyly ale příliš uspokojivé (pouze 10 - 20 % ovulujících jikernaček).

Dvořák (1982) uvádí úspěšnou hormonálně indukovanou ovulaci pomocí dvou dávek odvodněné kapří hypofýzy (v celkové výši 15 - 18 mg.kg<sup>-1</sup>) u jikernaček odlovených při teplotě vody 12 - 14 °C v řece Teplé. Po převozu na líheň byly generační ryby drženy tři dny při teplotě 14 - 15 °C v průtočných laminátových žlabech. Poté byla aplikována první dílčí dávka hypofýzy a po 24 hodinách druhá. Při druhé dílčí dávce následovalo zvýšení teploty vody na 19 - 20 °C. Za 16 - 20 hodin po druhé dávce došlo k ovulaci a bylo uměle vytřeno kolem 50 % jikernaček. Rovněž Kouřil *et al.* (1988) úspěšně potvrdil použití kapří hypofýzy ve dvou dílčích dávkách v intervalu 12 hodin (1 + 5, resp. 1 + 10 mg.kg<sup>-1</sup>). Ovulace a umělého výtěru bylo dosaženo v prvním případě u 60 % jikernaček za 553 ± 60 h°. Ve druhém případě u 80 % jikernaček za 608 ± 121 h°. Relativní hmotnost vytřených jiker u všech vytřených jikernaček činila 3,26 ± 2,70 % (relativní pracovní plodnost 6 628

$\pm 4\,470$  ks jiker.kg<sup>-1</sup> jikernačky). Podobně jako u řady dalších druhů ryb (viz přehled Kouřil *et al.*, 2006), ukázala se i u parmy jako vhodná metoda hormonální indukce ovulace, použití přípravku Kobarelin, funkčního analogu spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRHa). Kouřil *et al.* (1988) zjistil nedosažení ovulace při podání syntetického analogu Kobarelinu v dávkovém rozpětí 1 - 10  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Částečně úspěšné ovulace bylo ale dosaženo po jednorázovém podání stejného analogu v dávkách 30 a 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , kdy se vytřelo 40, respektive 20 % jikernaček za  $663 \pm 114$  h°. Relativní hmotnost vytřených jiker činila  $6,32 \pm 4,23$  % (relativní pracovní plodnost  $10\,673 \pm 7\,227$  ks jiker.kg<sup>-1</sup>). Průměrná hmotnost jednotlivých skupin jikernaček v pokusu se pohybovala v rozmezí 702 - 794 g. Průměrná hmotnost jedné vytřené (suché) jikry od všech jikernaček dosahovala  $5,82 \pm 0,68$  mg, tzn., že v 1 kg vytřených jiker bylo obsaženo  $172 \pm 15$  tis. jiker. Teplota vody v testech kolísala v rozpětí 15,1 - 16,5 °C. Dle Krupky (1985) dosahuje u parmy průměr nenabobtnaných jiker 2,0 mm, podle Dvořáka (1982) je to 2,1 mm. Jeden litr nenabobtnaných jiker obsahuje 147 tis. a nabobtnaných 85 tis. kusů jiker. Při bobtnání zvětšují jikry průměr během 1 hodiny na 2,4 mm (Krupka, 1985).

Parmy chované v umělých podmínkách nejsou schopny přirozeného výtěru. Je zapotřebí provést umělý výtěr s oplodněním „*in vitro*“. Jikry se následně inkubují při teplotě 17 °C, kulení začíná po 130 hodinách a končí po 146 hodinách (Krupka, 1985). Philippard *et al.* (1989) uvádí dlouhodobý odchov generačních palem v průtočném bazénu s vodou o teplotě 18 °C. Průměrná pracovní plodnost spontánně ovulujících a uměle vytíraných jikernaček kolísala od 2 do 10 tis. jiker (při délce ryb 180, respektive 500 mm), v průměru 8 tis. jiker. V průběhu výtěrové sezóny bez hormonální indukce ovulace dosahovala průměrná celková absolutní plodnost jednotlivých jikernaček 80 tis. jiker. V případě působení optimální fotoperiody v období ledna až července, což je pro výtěr pohlavně dospělých ryb při stálé teplotě vody rozhodujícím stimulem (Philippard *et al.*, 1989; Poncin, 1989), mohou po sobě následovat parciální výtěry zhruba v 15ti denních intervalech a mohou se opakovat v průměru 10krát až 15krát za jednu výtěrovou sezónu (Poncin *et al.*, 1987).

V současnosti probíhá ve VÚRH JU Vodňany dlouhodobý pokus zaměřený na ověření možnosti odchovu remontních a generačních palem v uzavřeném recirkulačním systému při celoroční teplotě 20 - 25 °C. Jako krmení se využívá granulovaných krmiv s případnými dalšími přísadami (mražený zooplankton, larvy pakomárů aj.). První dílčí výsledky týkající se odchovu roček parmy uvádí ve své práci Polícar *et al.* (2007). V letech 2006 a 2007 proběhlo, respektive probíhá sledování spontánního dozrávání palem obojího pohlaví.

Dále se provádí umělý výtěr s cílem zjistit počet a frekvenci dozrávání jednotlivých porcí jiker, plodnost jikernaček a mlíčáků, oplozenost a líhivost jiker a životaschopnost potomstva. Na základě dílčích doposud nepublikovaných výsledků (Polícar, ústní sdělení) možno konstatovat, že se generační ryby obojího pohlaví (ve věku 3 - 4 roky dosahují individuální hmotnosti 0,2 - 0,8 kg) dobře adaptovaly na podmínky masového odchovu v průtočných laminátových nádržích o objemu 700 l, včetně příjmu granulovaného krmiva (podávaného zpravidla pomocí krmítek na hodinový strojek). Při použití anestézie v roztoku hřebíčkového oleje nečiní problém ani častá manipulace s rybami (ve výtěrové sezóně v týdenních, jinak v delších intervalech) související s jejich identifikací (ryby jsou trvale označeny pomocí jednoznačně scannerem určitelných PIT značek). Jako dosti problematická se jeví skutečnost, že výtěrové období je velmi dlouhé (zhruba od února do července) a jednotlivým jikernačkám dozrávají jednotlivé porce jiker několikrát. Množství jiker vytřených v jednotlivých porcích od jednotlivých jikernaček je ale poměrně velmi malé (pouze několik gramů), vzhledem k tomu, že kontrola spontánní ovulace a pokusy o umělý výtěr probíhají zpravidla v jednotýdenních intervalech. Častější kontrola ryb spojená s jejich přelovením a anestézií by byla z hlediska náročnosti pro obsluhu a manipulačního stresu u ryb neúnosná. To je ale současně příčinou, že jsou jen přibližně od jedné třetiny ovulujících a uměle vytřených jikernaček získány životaschopné jikry. Uměle vytřené jikry od ostatních jikernaček mají jen velmi nízkou oplozenost nebo se již z důvodu ovulace několik dní před umělým výtěrem nacházejí v počátečních fázích resorbce (parmy samovolně nepouštějí spontánně ovulované jikry v nádrži, na rozdíl od většiny jiných uměle reprodukováných druhů ryb).

### **2.3. Anestézie**

#### **2.3.1. Anestézie a její fáze**

Anestetika jsou látky s chemickofyzikálními účinky na organismus. V počátku působení vyvolávají uklidňující efekt, později ztrátu rovnováhy, pohyblivosti, vědomí a reflexů u organismu vystavenému vyšším koncentracím anestetik nebo vystavením těmto látkám po delší časový interval (Summerfelt a Smith, 1990). Anestetika se běžně využívají pro manipulaci s rybami při umělém výtěru, šlechtitelské práci, veterinárních zákrocích a jiných úkonech. Významným důvodem je také usnadnění manipulace s velkými či mrštnými druhy ryb (Trzebiatowski *et al.*, 1996). Aplikací anestetik se zároveň docílí redukce stresu,

který na ryby v nadměrné míře působí při manipulaci (Kazuň *et al.*, 1999). Trzebiatowski *et al.* (1996) uvádí jako výsledek anestézie dočasné snížení prahu bolesti, dočasnou ztrátu reflexů, zmenšení svalového napětí a z toho plynoucí snadnější manipulaci s rybami. Svoboda a Kolářová (1999) zmiňují, že anestézie není pouze součástí prevence mechanického poškození, ale je především součástí předcházení manipulačnímu stresu. V první fázi odpovědi organismu na působení manipulačního stresu se objevují endokrinní změny, ty se následně uplatňují při řízení organismu a vyvolávají změny metabolických procesů, jejichž intenzita se odráží především ve změnách hodnot hematologických ukazatelů a acidobazické rovnováhy osmotických a dalších změn, které vedou ke snížení nespecifické odolnosti a následně ke zhoršení zdravotního stavu ryb (Brožová a Svobodová, 1986). Při hormonální stimulaci reprodukce nebo při aplikaci léčiv za pomoci sondy či injekce je velké riziko mechanického poškození, manipulačního stresu a následného zhoršení zdravotního stavu ryb, pokud není použito anestézie (Svoboda a Kolářová, 1999).

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

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

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

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

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

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

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

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

Odezňování anestézie probíhá v obráceném pořadí:

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

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

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

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

### **2.3.2. Charakteristika aplikovaného anestetika hřebíčkový olej**

Jedná se o tmavě hnědou kapalinu, získávanou destilací květů, listů a stonků hřebíčkových stromů (*Eugenia aromatica*) (Soto a Burhanuddin, 1995). Také Kene *et al.* (1998) se s tímto tvrzením o destilaci květů, listů a stonků ztotožňuje, ale za zdroj považuje strom (*Eugenia caryophyllata*). Aktivní složkou hřebíčkového oleje je eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol), který představuje 70 až 90 % hmotnosti hřebíčkového oleje, dále také obsahuje eugenol acetate v množství vyšším 17 % a katriofilen-5 cca 12 % (Hermani a Tangendaja, 1988). I Ross a Ross (1999) udávají složení hřebíčkového oleje a doplňují ho o celou řadu terpentýnových sloučenin, které dodávají nezaměnitelnou vůni a chuť. Stejný kolektiv autorů Ross a Ross (1999) dále hřebíčkový olej představují jako slabé anestetikum využívané již po staletí v Indonésii na tlášení bolesti zubů a hlavy. Warren (1983) považuje

hřebíčkový olej za narkoanestetikum a svalový uvolňovač nebo paralytickou drogu. Doporučovaná koncentrace hřebíčkového oleje je 30 - 40 mg.l<sup>-1</sup>, anestézie nastupuje do 5 - 10 minut a doba zotavení je poněkud delší oproti jiným anestetikům. Přednost tohoto anestetika (přírodní původ) je zároveň i jeho nevýhodou. Nelze totiž přesně zjistit složení jednotlivých šarží a to je překážka pro získání registrační dokumentace, která musí obsahovat certifikát o přesném chemickém složení. Také nemá stanoven maximální limit reziduí (MRL), což vylučuje jeho aplikaci u zvířat určených k lidské konzumaci (konzumaci produktů nevyjímaje) (Kolářová *et al.*, 2006).

#### 2.4. Antimykotické koupele jiker

Umělá inkubace rybích jiker na líhních se zpravidla neobejde bez použití antimykotických preparátů pro prevenci a tlumení mykotických onemocnění, jejichž původci jsou parazitické plísňe rodů *Saprolegnia* a *Achlya*. Částečně mohou být tyto zásahy omezeny v případech, kdy je jako zdroje vody pro rybí líheň použito kvalitní podzemní vody, případně je součástí úpravy vody pro rybí líheň účinný mechanický filtr a zařízení pro dezinfekci vody UV zářením. Většina rybích líhní je však napájena povrchovou vodou, která je přirozenou cestou kontaminována zárodky plísni a dalších mikroorganismů. Mimo toho jsou do inkubačních přístrojů nasazovány vedle oplozených a vyvíjejících se jiker i jikry neoplozené, respektive v průběhu jejich vývoje dojde u určitého podílu jiker z nejrůznějších důvodů k přerušení vývoje a k jejich odumření. Odumřelé jikry jsou velmi vhodným substrátem pro rozvoj plísni. Z těchto příčin je použití antimykotických preparátů pro prevenci a tlumení mykóz zpravidla nutné ve všech případech, byť v různé intenzitě použití (Kouřil a Hamáčková, 1998 b).

Jododetergentní přípravky představují možnost náhrady nežádoucí toxické malachitové zeleně při ošetřování jiker různých druhů ryb s cílem omezení ztrát v průběhu inkubace v umělých podmínkách (Kouřil *et al.*, 1996). Jedním z preparátů používaných zejména v zahraničí k ošetření jiker lososovitých ryb je jododetergentní přípravek Wescodyne (Leitritz a Lewis, 1976). Podle Pechy (1981) je tento přípravek úspěšně používán i pro dezinfekci uměle inkubovaných jiker štiky. V našich podmínkách se běžně využívá podobného preparátu, Jodisolu. Wescodyne a Jodisol obsahují účinnou látku jodoforin, tj. komplex jodu s poly-N-vinylpyrolidonem-2, jsou dodávány ve formě kapaliny temně hnědé barvy a vyznačují se antivirovými a antimykotickými účinky (Kouřil *et al.*, 1997). Doporučené koncentrace koupelí v Jodisolu při délce expozice 2 minut, frekvenci provádění

1 - 2krát denně a při různých teplotách vody pro kapra obecného, karasa zlatého, lína obecného, bufala velkoustého a sumce velkého uvádí tab. 3.

Teplota vody (°C)	Koncentrace koupele (ml.l <sup>-1</sup> )
17 - 20	5 – 10
20 - 22	3 – 5
22 - 25	2 – 3

Tab. 3: Koncentrace koupelí jiker v roztoku Jodisolu (Kouřil a Hamáčková, 1998 b).

### Experimenty s jikrami některých rybích druhů publikované Kouřilem a Hamáčkovou:

**Kapr obecný (*Cyprinus carpio*):** S koupelemi jiker kapra bylo realizováno několik experimentů. Základní test byl orientovaný na vymezení optimálních kombinací délky expozice a koncentrace preparátu Wescodyne, který probíhal při teplotě vody 20,0 (17,6 - 21,2) °C. Nejvyšších hodnot líhnivosti 82 % bylo docíleno při kombinacích koncentrace 1 ml.l<sup>-1</sup> a délky expozice 20 minut, respektive 73 % při 2 ml.l<sup>-1</sup> a 10 minut a 77 % s 5 ml.l<sup>-1</sup> a 2 minutami (Kouřil a Hamáčková, 1991).

Další test s přípravkem Wescodyne byl proveden při dvou délkách expozice 2 a 5 minut, teplotě vody 21,3 (19,5 - 23,1) °C. Nejpriznivější líhnivosti 96 - 100 % bylo dosaženo při délce expozice 2 minut v rozpětí koncentrací 3 - 6 ml.l<sup>-1</sup> a u expozice 5 minut v rozpětí koncentrací 3 - 5 ml.l<sup>-1</sup>. Líhnivosti vyšší než 80 % bylo docíleno u expozice 2 minut v rozpětí koncentrací 2 - 10 ml.l<sup>-1</sup> a u expozice 5 minut s koncentrací 3 - 9 ml.l<sup>-1</sup>. Kontrola dosáhla líhnivosti 56 % (Kouřil a Hamáčková, 1992).

V jiném pokusu byly jikry kapra obecného inkubovány při třech různých teplotách vody (21,2 ± 0,8, 23,0 ± 1,0 a 24,6 ± 1,0 °C). Pětkrát opakované koupele v přípravku Wescodyne byly prováděny ve 2 minutových expozicích. Byl prokázán mírný vliv teploty vody na toleranci jiker ke koupelím. Při nejnižší teplotě bylo dosaženo nejvyšší líhnivosti 86 - 92 % v rozpětí koncentrací 2 - 5 ml.l<sup>-1</sup>, přičemž došlo jen k malému zvýšení líhnivosti ve srovnání s kontrolou (85,3 ± 7,0 %) (Kouřil a Hamáčková, 1995).

Rovněž byla zjišťována závislost líhnivosti na koncentraci dvakrát opakovaných koupelí v roztocích Wescodyne a Jodisolu s délkou expozice 2 a 5 minut při teplotě vody 22,2 (21,1 - 23,4) °C. Nejvyšší líhnivosti bylo dosaženo u přípravku Wescodyne při koncentracích 0,5 - 10 ml.l<sup>-1</sup> a u jodisolu při 2 - 50 ml.l<sup>-1</sup> (Kouřil *et al.*, 1996).

**Karas zlatý (*Carasius auratus*):** Byla zjišťována závislost líhnivosti na koncentraci dvakrát opakovaných koupelí v roztocích Wescodyne a Jodisolu s délkou expozice 2 a 5 minut. Experiment byl proveden při teplotě vody 20,1 (19,3 - 21,5) °C. Nejvyšší líhnivosti bylo dosaženo při použití Wescodyne při koncentracích v rozpětí 1 - 2 ml.l<sup>-1</sup>, při použití Jodisolu při koncentracích 2 - 50 ml.l<sup>-1</sup> (Kouřil *et al.*, 1996).

**Lín obecný (*Tinca tinca*):** Experimenty probíhaly s přípravkem Wescodyne. Při použití koncentrací 0,3 - 3 ml.l<sup>-1</sup> a 2 minut expozice bylo dosaženo líhnivosti 76 - 90 %. U kontrolních skupin bylo docíleno líhnivosti pouhých 36,5 %. Pětiminutová expozice již neměla tak výrazně pozitivní účinek na zvýšení přežití (Kouřil a Hamáčková, 1992, 1993, 1994). V dalším pokusu byl studován vliv teploty vody na citlivost jiker k testovaným preparátům. Při teplotě 17,6 ± 0,73 °C byla líhnivost u kontrolních skupin 38 %, při teplotách 20,9 ± 0,58 a 23,6 ± 0,75 °C pak shodně 58 %. U obou jododetergentních preparátů byly zjištěny takřka shodné závislosti líhnivosti jiker na aplikované koncentraci koupelí při střední a vyšší teplotě. Absolutně nejvyšší líhnivosti bylo dosaženo při nejvyšší teplotě a použití Jodisolu (koncentrace 5 ml.l<sup>-1</sup>; líhnivost 88 %). Při obou nižších teplotách (20,9 a 17,6 °C) bylo nejvyšší líhnivosti dosaženo rovněž při použití Jodisolu (84 % při koncentraci 5 ml.l<sup>-1</sup>, respektive 76 % při koncentraci 10 ml.l<sup>-1</sup>) (Kouřil *et al.*, 1997).

**Štika obecná (*Esox lucius*):** Experiment byl proveden při teplotě vody 18,9 ± 1,15 (16,9 - 21,6) °C, při dvou délkách expozice (2 a 5 minut). Koupel byla v průběhu inkubace opakována 6krát. U kontroly bylo dosaženo líhnivosti 59 %. Při použití Wescodyne při délce expozice 5 minut a koncentracích 2 - 20 ml.l<sup>-1</sup> bylo dosaženo líhnivosti 80 - 88 % (Kouřil *et al.*, 1996).

**Sumec velký (*Silurus glanis*):** Inkubace jiker probíhala při teplotě vody 21,4 (20,5 - 22,5) °C a při 4krát opakovaných koupelích ve Wescodyne. V kontrole bylo dosaženo 50,5 % líhnivosti. Při koupeli v roztoku Wescodyne 0,2 a 0,5 ml.l<sup>-1</sup> koncentrace a 2 minutové expozici dosahovala líhnivost 66 a 64 % (Kouřil a Hamáčková, 1992, 1993). S přípravkem Wescodyne byla dále sledována líhnivost při pěti různých teplotách vody (18,4 ± 0,4; 20,0 ± 0,3; 22,1 ± 0,8; 23,6 ± 1,2 a 25,4 ± 0,6 °C). U třech prostředních teplot se líhnivost u koncentrací v rozpětí 0,5 - 2 ml.l<sup>-1</sup> pohybovala na úrovni 92 - 100 %. U nejnižší teploty se optimální rozpětí použitých koncentrací rozšířilo na 0,5 - 5 ml.l<sup>-1</sup> a u nejvyšší teploty naopak zúžilo na 0,5 - 1 ml.l<sup>-1</sup> (Kouřil a Hamáčková, 1995).



### **3. METODIKA A MATERIÁL**

#### **3.1. Generační materiál**

V dnešní době je z důvodu výrazného úbytku parem ve volných vodách velice obtížné zajistit dostatečné množství generačního materiálu.

Na rybí líhni místní organizace Moravského rybářského svazu v Třebíči - Poušově byly realizovány dva pokusy s hormonálně indukovaným umělým výtěrem parmy. Konkrétně v termínech 20. - 22. 5. 2005 a 24. - 26. 5. 2006. Na oba pokusy byl generační materiál získán odlovem z volných vod pomocí elektrického agregátu ML - 3. V roce 2005 se jednalo o lokalitu Dolní Kounice na řece Jihlavě. Z tohoto trdliště se podařilo odlovit 25 pohlavně zralých, ale spontánně neovulujících jikernaček o hmotnostním rozpětí 560 - 1930 g a dostatečné množství mlíčáků. Na druhý pokus (rok 2006) se generační materiál získal v Brně ze Svratky. Z této lokality jsme měli k dispozici pouze 11 jikernaček v hmotnostním rozpětí 680 - 1700 g. Následoval šetrný převoz na líheň, kde byly generační ryby v obou případech umístěny podle pohlaví do průtočných žlabů. Po výtěru se veškeré ryby vrátili zpět na místa původní výskytu.

Testy s antimykotickými koupelemi jiker parmy obecné byly realizovány ve VÚRH JU Vodňany v únoru a březnu roku 2007. K experimentům nám posloužily oplozené jikry z umělých výtěrů parem chovaných v kontrolovaných podmínkách prostředí. Při umělém výtěru nebylo využito hormonální indukce ovulace. Aby se zaručila co největší vypovídající schopnost výsledků antimykotických koupelí, bylo v každém opakování testu využito jiker od jedné jikernačky.

#### **3.2. Vlastní metodika**

Původně plánované pokusy s hormonální indukcí ovulace jikernaček odchovávaných v kontrolovaných podmínkách prostředí ve VÚRH JU Vodňany nebyly realizovány, protože se na tomto pracovišti ukázalo jako potřebné soustředit se v první fázi výzkumu na sledování délky výtěrového období a spontánní dozrávání jednotlivých porcí jiker (bez použití hormonální stimulace). Pokusy s umělým výtěrem parem odlovených z volných vod, opakovaně realizované na rybí líhni v Třebíči - Poušově, se ukázaly jako dostatečně nosné a časově náročné. Proto jsem se ve své diplomové práci plně soustředil především na ně.

Jiker z umělých výtěrů hormonálně nestimulovaných jikernaček odchovávaných v kontrolovaných podmínkách prostředí bylo využito jen k pokusům s antimykotickými koupelemi.

### **První pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (20. - 22. 5. 2005)**

Po převozu na rybí líheň a jednodenní aklimatizaci v průtočných laminátových žlabech byly jikernačky zcela náhodně rozděleny do 5 skupin po 5 jedincích. Jednotlivé skupiny byly následně individuálně umístěny při přirozeném světelném režimu do samostatných plovoucích klecí instalovaných v průtočné nádrži s teplotou vody 19 °C.

Před samotnou injikací hormonálního přípravku, respektive hypofýzy byly jikernačky anestetizovány v anestetiku hřebíčkový olej o koncentraci 0,04 ml.l<sup>-1</sup> při délce expozice 3 - 5 minut. Následně byla každá jikernačka individuálně zvážena a byl jí jednorázově intramuskulárně injikován hormonální přípravek Supergestran nebo kapří hypofýza ve fyziologickém roztoku. První kontrolní skupina byla injikována kapří hypofýzou v dávce 6 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti. Druhá kontrolní skupina nebyla injikovaná žádným preparátem a zbývajícím třem skupinám byl aplikován veterinární přípravek Supergestran (obsahující účinnou látku Lecirelin) v různých dávkách Lecirelinu 5, 25 a 125 µg.kg<sup>-1</sup>.

Po aplikaci preparátů byly jikernačky dle jednotlivých pokusných skupin navraceny zpět do plovoucích klecí v nádrži. Teplota vody byla velmi vyrovnaná, pohybovala se v rozmezí 18,4 - 19,5 °C. Před předpokládanou ovulací se jikernačky v jednotlivých skupinách v cca 2 - 3 hodinových intervalech kontrolovaly a při dosažení ovulace neprodleně uměle vytíraly. U ovulujících jikernaček bylo břicho na omak měkké a při mírném bočním stisku břišní partie se současným pohybem prstů od hlavy směrem k řitnímu otvoru docházelo k uvolňování několika jiker.

Před vlastním umělým výtěrem ryb se nejprve provedla anestézie v roztoku hřebíčkového oleje o totožné koncentraci jako u injikace. Výtěr byl prováděn do předem připravených, zvážených a dokonale suchých plastových misek. Následně se zvážením zjistila hmotnost vytřených jiker od jednotlivých jikernaček s přesností na 1 g. Získané jikry byly oplozeny spermatem mlíčáků parmy a inkubovány v devíti litrových Zugských lahvích. Odlepkování jiker se neprovádělo. U mlíčáků není hormonální stimulace zapotřebí.

Při výtěru byl zaznamenán čas a na jeho základě vypočtena délka časového intervalu latence od injikace po výtěr v hodinách (h) a hodinových stupních (h°). Dále se hodnotilo % ovulujících jikernaček. Na základě známé hmotnosti vytřených jiker a hmotnosti

jikernačky před výtěrem byla stanovena relativní hmotnost vytřených jiker (RHVJ) od jednotlivých jikernaček v %. Z těchto individuálních údajů byly u každé pokusné skupiny vypočteny průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačových programech Microsoft Excel 2003 a Statistica 6.

### **Druhý pokus s hormonálně indukovaným umělým výtěrem (24. - 26. 5. 2006)**

Po odlovu a převozu na rybí líheň byly jikernačky tentýž den (24. 5. 2006) zcela náhodně rozděleny do 2 skupin po 5 a 6 jedincích. Jednotlivé skupiny byly následně individuálně umístěny při přirozeném světelném režimu do průtočných laminátových žlabů se stabilní teplotou vody 15 °C. Tento den byly následně také ještě injikovány.

Před samotnou injikací hormonálního přípravku byly jikernačky anestetovány v anestetiku hřebíčkový olej o koncentraci 0,04 ml.l<sup>-1</sup> při délce expozice 3 - 5 minut. Následně byla každá jikernačka individuálně zvážena a byl jí jednorázově intramuskulárně injikován hormonální přípravek Ovopel, respektive Dagin. První skupině (6 jedinců) byl aplikován izraelský preparát Dagin v dávce 1 ml.kg<sup>-1</sup> hmotnosti. Druhé skupině (5 jedinců) byl injikován maďarský preparát Ovopel v dávce 1 kus.kg<sup>-1</sup>.

Po aplikaci preparátů byly jikernačky dle jednotlivých pokusných skupin navraceny zpět do laminátových žlabů. Teplota vody byla stále stabilní, pohybovala se v rozmezí 14,8 - 15,3 °C. Před předpokládanou ovulací se jikernačky v jednotlivých skupinách v cca 2 - 3 hodinových intervalech kontrolovaly a při dosažení ovulace neprodleně uměle vytíraly. U ovulujících jikernaček bylo břicho na omak měkké a při mírném bočním stisku břišní partie se současným pohybem prstů od hlavy směrem k řitnímu otvoru docházelo k uvolňování několika jiker.

Před vlastním umělým výtěrem ryb se nejprve provedla anestézie v roztoku hřebíčkového oleje o totožné koncentraci jako u injikace. Výtěr byl prováděn do předem připravených, zvážených a dokonale suchých plastových misek. Následně se zvážením zjistila hmotnost vytřených jiker od jednotlivých jikernaček s přesností na 1 g. Získané jikry byly samostatně od každé jikernačky oplozeny spermatem mlíčáku parmy a inkubovány v devíti litrových Zugských lahvích (11 jikernaček = 11 lahví). Odlepkování jiker se neprovádělo. U mlíčáku není hormonální stimulace zapotřebí.

V průběhu inkubace vykazovala teplota vody spíše sestupnou tendenci v rozmezí 11,5 - 15 °C. 30. 5. 2006 (pátý den inkubace, teplota vody 13 °C) se realizovala kontrola

oplozenosti inkubovaných jiker. Z každé Zugské lahve se pomocí skleněné trubičky odebraly čtyři vzorky jiker. V jednotlivých vzorcích se spočítal celkový počet jiker a počet bílých (neoplozených) jiker. Z těchto údajů se posléze vypočítala % oplozenost jiker.

16. 6. 2006 byl proveden neúspěšný pokus o zjištění líhivosti (plůdek se držel pospolu u dna a šetrným způsobem se nedal rovnoměrně rozmístit po celém objemu nádoby). Vina na této skutečnosti byla čistě technického rázu, kdy se ne zcela rozplavaný plůdek vysazoval do zemního rybníčku.

Při výtěru byl zaznamenán čas a na jeho základě vypočtena délka časového intervalu latence od injikace po výtěr v hodinách (h) a hodinových stupních (h°). Dále se hodnotilo % ovulujících jikernaček, relativní hmotnost vytřených jiker (RHVJ) od jednotlivých jikernaček v %, absolutní a relativní plodnost v kusech, průměrná hmotnost jedné jikry od jednotlivých jikernaček v mg a oplozenost v %. Z těchto individuálních údajů byly u každé pokusné skupiny vypočteny průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačových programech Microsoft Excel 2003 a Statistica 6.

### **První pokus s antimykotickými koupelemi jiker (7. - 15. 2. 2007)**

Po umělém výtěru palem a následném osemenění jiker se jikry umístily k inkubaci do malých kolébek situovaných ve žlabu s provzdušňováním. Teplota vody při nasazení jiker do kolébek činila 14,5 °C. Za 8 hodin po oplození byla zjištěna 99,5 % oplozenost jiker. Po 26 hodinách od vlastního výtěru bylo odebráno potřebné množství jiker, které bylo pomocí lžičky ručně nasazeno do skleněných misek o objemu cca 200 ml. Celkem bylo nasazeno 19 misek po 30 kusech zjevně se vyvíjejících jiker. 3 misky posloužily jako kontroly bez aplikace antimykotických koupelí. Na 8 miskách byly testovány koupele jododetergentního preparátu s antivirovým a antimykotickým účinkem Jodisol o různých koncentracích (0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 50 a 100 ml.l<sup>-1</sup>). U zbývajících 8 skupin byly aplikovány koupele huminového přípravku s antimykotickým, antivirovým a antistresovým efektem Aquahum v koncentracích 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 a 5 ml.l<sup>-1</sup>.

Vlastní testování citlivosti jiker ke koupelím probíhalo tak, že v průběhu inkubace (od nasazení na misky) byla každý den provedena jedna koupel jiker. Jakmile došlo k líhnutí plůdku, koupele se již neprováděly. Celkem bylo provedeno 6 koupelí. Délka jednotlivých koupelí činila 5 minut. Při koupelích byla slita voda z jiker, nalit roztok testovaného přípravku, rychle slit a znovu nalit (pro dosažení žádané koncentrace tak, aby zbytky vody

nezřed'ovaly předem přesně připravenou koncentraci roztoku). Po uplynutí plánované délky expozice (5 minut) bylo obdobným způsobem provedeno slití testovaného roztoku Jodisol, respektive Aquahumu a nalití vody. K inkubaci byla použita den předem odstátá vodovodní voda. Teplota vody při tomto experimentu činila v průměru  $16,8 \pm 0,9$  °C.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačovém programu Microsoft Excel 2003.

### **Druhý pokus s antimykotickými koupelemi jiker (13. 2 - 30. 3. 2007)**

Veškeré pokusy probíhaly ve třech opakováních. Po umělém výtěru parem a následném osemenění jiker se jikry umístily k inkubaci do malých kolébek situovaných ve žlabu s provzdušňováním. Teplota vody při nasazení jiker do kolébek vždy činila 16 °C. Za 19 hodin po oplození byla zjištěna 98, 95 a 85 % oplozenost jiker. Po 20 hodinách od vlastního výtěru bylo odebráno potřebné množství jiker, které bylo pomocí lžičky ručně nasazeno do skleněných misek o objemu cca 200 ml. Celkem bylo v každém opakování nasazeno 20 misek po 20 kusech zjevně se vyvíjejících jiker. 6 misek posloužilo jako kontrola bez aplikace antimykotických koupelí. Na 14 zbývajících miskách byly testovány koupele jododetergentního preparátu s antivirovým a antimykotickým účinkem Jodisol o 7 různých koncentracích (1; 2; 5; 10; 20; 50 a 100 ml.l<sup>-1</sup>). U polovičního počtu misek s kontrolou (3 misky) a u polovičního počtu misek s aplikací antimykotických koupelí (7 misek) bylo při inkubaci využito vodovodní vody. U zbylé poloviny kontrol a testovaných skupin s koupelemi bylo použito vody rybníční.

Vlastní testování citlivosti jiker ke koupelím probíhalo tak, že v průběhu inkubace (od nasazení na misky) byla každý den provedena jedna koupel jiker. Jakmile došlo k líhnutí plůdku, koupele se již neprováděly. Celkem bylo provedeno 5 koupelí. Délka jednotlivých koupelí činila 5 minut. Při koupelích byla slita voda z jiker, nalit roztok testovaného přípravku, rychle slit a znovu nalit (pro dosažení žádané koncentrace tak, aby zbytky vody nezřed'ovaly předem přesně připravenou koncentraci roztoku). Po uplynutí plánované délky expozice (5 minut) bylo obdobným způsobem provedeno slití testovaného roztoku Jodisol a nalití vody. K inkubaci byla použita den předem odstátá vodovodní, respektive rybníční voda. Teplota vody se při tomto experimentu pohybovala v průměru  $16,9 \pm 0,6$  °C.

Veškeré zjištěné údaje a výsledky byly statisticky zpracovány v počítačovém programu Microsoft Excel 2003.

### 3.3. Aplikované preparáty

#### 3.3.1. Hormonální preparáty

##### Extrakt dehydratované kapří hypofýzy (CPE)

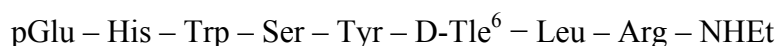
Jde o hypofýzy kapra obecného získané ve zpracovně ryb, odvodněné pomocí obvyklého postupu a uložené v suchém stavu v uzavřené lahvičce.

##### Supergestran

Jedná se o veterinární léčivo produkované v České republice farmaceutickou společností Ferring – Léčiva a.s..

Obsahuje účinnou látku Lecirelin (0,025 mg v 1 ml Supergestranu).

Lecirelin je syntetický funkční analog spouštěcího hormonu gonadotropinu GnRH o chemické struktuře:



##### Ovopel

Jde o kombinovaný preparát obsahující funkční analog GnRH a dopaminergní inhibitor. Země původu tohoto preparátu je Maďarsko.

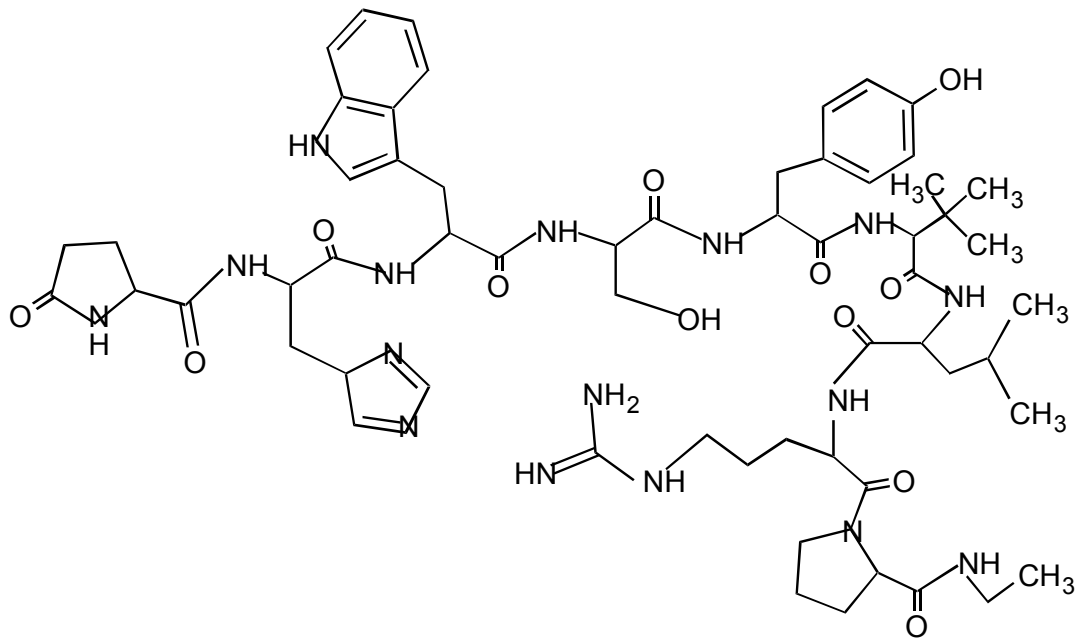
Jedna peleta kombinovaného přípravku Ovopel obsahuje 20 µg syntetického GnRH<sub>a</sub> (des-Gly<sup>10</sup>, D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>NH<sub>et</sub>)-mGnRH a 2 mg dopaminergního inhibitoru metoclopramid.

Před aplikací se rozpouští ve fyziologickém roztoku.

##### Dagin

Jedná se o podobný kombinovaný preparát obsahující funkční analog lososího GnRH ([D-Arg<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>H<sub>Net</sub>]-sGnRH) a dopaminergní inhibitor metoclopramid. Země původu tohoto preparátu je Izrael.

Dodává se v lyofilizované formě a před aplikací se rozpouští ve fyziologickém roztoku.



Obr. 4: Strukturní vzorec Lecirelinu.



Obr. 5: Aplikované hormonální preparáty (zleva: Ovopel, Supergestran a Dagin).

### 3.3.2. Antimykotické preparáty

#### Jodisol

Jde o jododetergentní preparát s antimykotickým a antivirovým účinkem produkovaný v České republice společností SpofaDental a.s..

Jodisol je dezinfekční tříprocentní lihový roztok temně hnědého zabarvení. Běžného uplatnění se mu dostává v humánní medicíně (například ve stomatologii). Jako účinnou látku obsahuje jodoform, tj. komplex jodu s poly-N-vinilpyrolidonem-2. Jod vázaný v komplexu jodoforinu se uvolňuje pozvolna, plného účinku dosahuje za 1 - 5 minut expozice.

#### Aquahum<sup>TM</sup>

Jedná se o přírodní kapalný huminový preparát s antimykotickým, antivirovým a antistresovým efektem vyráběný v České republice společností Amagro s.r.o..

Využití nachází v akvaristice, kde vedle antimykotického, antivirového a antistresového účinku na ryby a jikry též příznivě ovlivňuje růst a stav akvarijních rostlin. Aquahum<sup>TM</sup> obsahuje 20 % huminových látek, dále pak stopové množství Mg, Si, Ca, S, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, Se, B, a Co.



Obr. 6: Aplikované antimykotické preparáty Aquahum a Jodisol.



## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Hormonálně indukovaný umělý výtěr

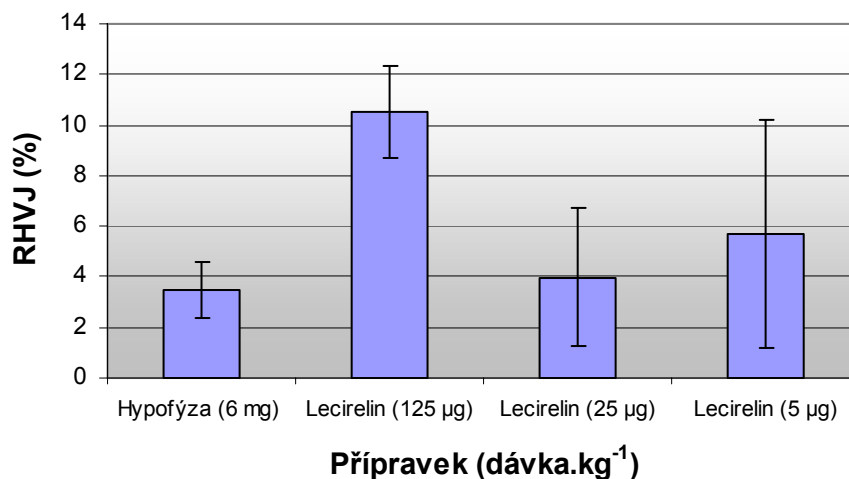
#### Hormonálně indukovaný umělý výtěr (rok 2005)

Při aplikaci nejvyšší dávky analogu GnRH Lecirelinu  $125 \mu\text{g.kg}^{-1}$ , obsaženého v přípravku Supergestran, ovulovalo a bylo úspěšně vytřeno 80 % jikernaček. U dalších dvou skupin jikernaček, jímž byly injikovány nižší dávky stejného analogu ( $25$  a  $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) bylo dosaženo ovulace pouze u 40 % jikernaček. U kontrolní skupiny jikernaček injikovaných extraktem kapří hypofýzy ( $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) ovulovalo 60 % jikernaček. U druhé kontrolní skupiny jikernaček neinjikovaných žádným hormonálním přípravkem nedošlo v průběhu sledování k ovulaci (tab. 4).

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (g)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h°)
Kontrola	5	0	$899 \pm 225$	0	x	x
Hypofýza ( $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ )	5	60	$1014 \pm 265$	$3,47 \pm 1,1^A$	$21,8 \pm 0,12^A$	$415 \pm 2^A$
Lecirelin ( $125 \mu\text{g.kg}^{-1}$ )	5	80	$868 \pm 224$	$10,54 \pm 1,81^B$	$35,94 \pm 0,11^B$	$683 \pm 2^B$
Lecirelin ( $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ )	5	40	$934 \pm 360$	$3,97 \pm 2,74^{AB}$	$38,13 \pm 1,88^C$	$724 \pm 36^C$
Lecirelin ( $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ )	5	40	$906 \pm 101$	$5,71 \pm 4,52^{AB}$	$36,13 \pm 0,13^{BC}$	$686 \pm 2^{BC}$

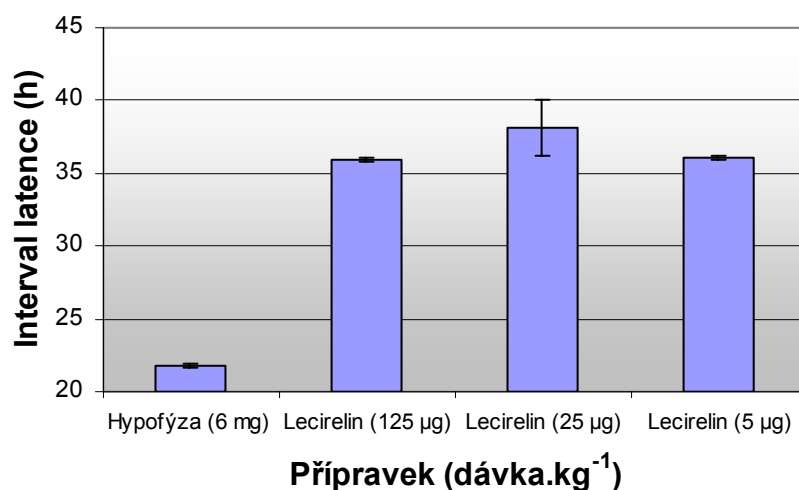
Legenda: Shodnými písmeny označené hodnoty znamenají, že rozdíly mezi nimi nejsou statisticky signifikantní.

Tab. 4: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček parmy obecné (rok 2005).



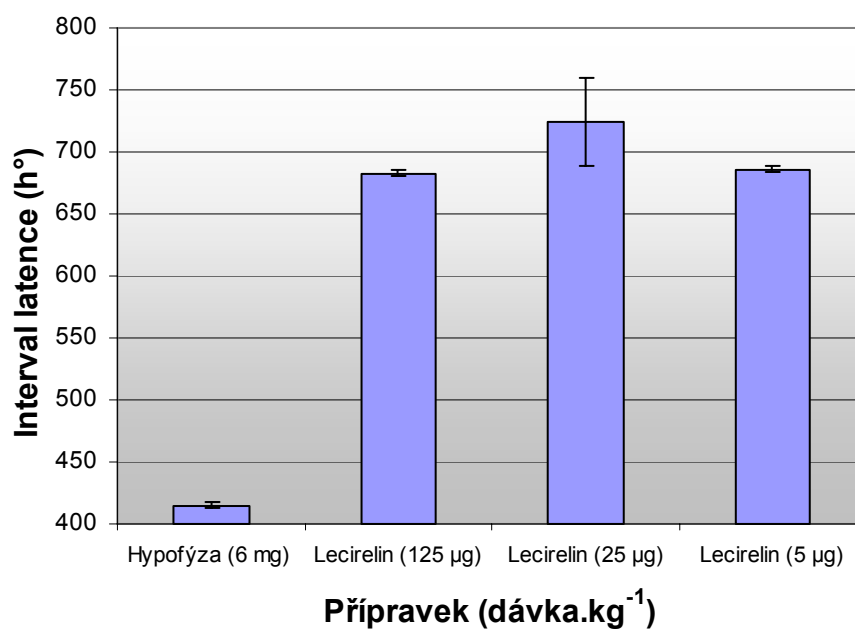
Obr. 7: Relativní hmotnost vytřených jiker v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce I.

Z obr. 7 a tab. 4 lze vyčíst, že při použití nejvyšší dávky účinné látky Lecirelin bylo docíleno 2 - 3 násobně vyšší průměrné relativní hmotnosti vytřených jiker ( $10,54 \pm 1,81$  %), ve srovnání s hodnotami zjištěnými u ostatních skupin jikernaček ( $3,47 \pm 1,1$  až  $5,71 \pm 4,52$  %). Rozdíly mezi relativní hmotností vytřených jiker u jikernaček ošetřených kapří hypofýzou a nejvyšší dávkou Lecirelinu jsou statisticky signifikantní.



Obr. 8: Interval latence (h) v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce I.

Obr. 8 a tab. 4 udává průměrnou délku intervalu latence (časového intervalu od injekce do ovulace) v hodinách, která činila při použití Lecirelinu  $35,94 \pm 0,11$  až  $38,13 \pm 1,88$  h a při použití kapří hypofýzy  $21,8 \pm 0,12$  h. Rozdíly mezi délkou intervalu latence u jikernaček ošetřených hypofýzou a Lecirelinem jsou statisticky signifikantní.



Obr. 9: Interval latence (h°) v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce I.

Obr. 9 a tab. 4 udává průměrnou délku intervalu latence (časového intervalu od injekce do ovulace) v hodinových stupních, která činila při použití Lecirelinu  $683 \pm 2$  až  $724 \pm 36$  h° a při použití kapří hypofýzy  $415 \pm 2$  h°. Rozdíly mezi délkou intervalu latence u jikernaček ošetřených hypofýzou a Lecirelinem jsou statisticky signifikantní.

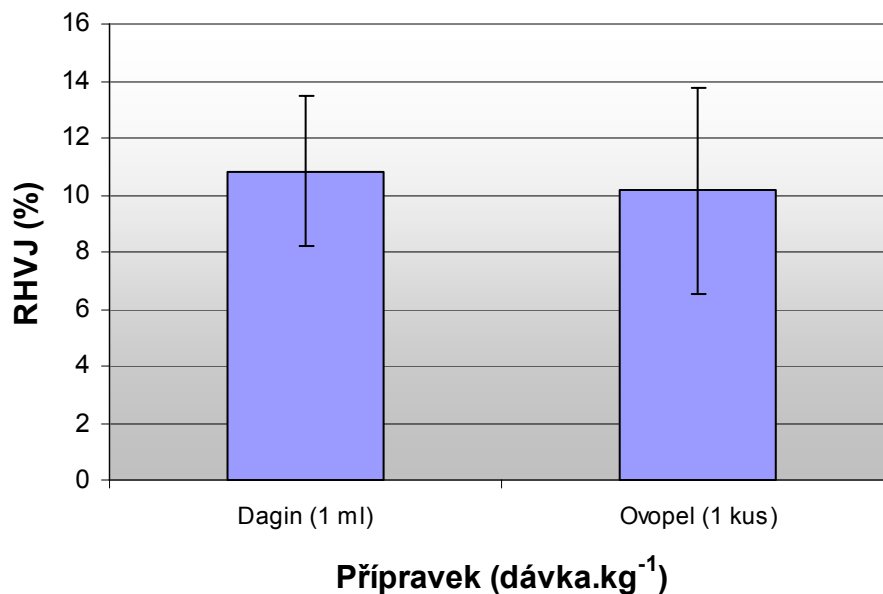
## Hormonálně indukovaný umělý výtěr (rok 2006)

U obou pokusných skupin, kterým byl podán testovaný preparát Dagin v dávce  $1 \text{ ml.kg}^{-1}$ , respektive Ovopel  $1 \text{ kus.kg}^{-1}$ , došlo k ovulaci a úspěšnému výtěru všech (100 %) jikernaček. Pouze u jedné jikernačky ve skupině injikované Ovopelem nedošlo k úplné, ale pouze k částečné ovulaci (vytřeno bylo 25 g jiker, což představuje pouze 3,2 % relativní hmotnosti vytřených jiker). Tato skutečnost poté ovlivňuje některé průměrné hodnoty dosažené tímto preparátem. Vyjma oplozenosti jiker nebyly zjištěné rozdíly ve sledovaných parametrech mezi odlišně ošetřenými skupinami jikernaček statisticky průkazné (tab. 5).

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček průměr ± SD (g)	Relativní hm. vytřených jiker průměr ± SD (%)	Délka intervalu latence průměr ± SD	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h°)
Dagin ( $1 \text{ ml.kg}^{-1}$ )	6	100	$1141 \pm 371$	$10,82 \pm 2,62^A$	$42,13 \pm 0,38^A$	$632 \pm 6^A$
Ovopel ( $1 \text{ kus.kg}^{-1}$ )	5	100	$1082 \pm 357$	$10,15 \pm 3,62^A$	$42,00 \pm 0,37^A$	$630 \pm 5^A$
Přípravek (dávka)	Absolutní plodnost průměr ± SD (ks)		Relativní plodnost průměr ± SD ( $\text{ks.kg}^{-1}$ )	Hmotnost 1 jikry (s ovariální tekutinou) průměr ± SD (mg)		Oplozenost průměr ± SD (%)
Dagin ( $1 \text{ ml.kg}^{-1}$ )	$13305 \pm 4152^A$		$12140 \pm 3470^A$	$9,01 \pm 1,39^A$		$92,5 \pm 2,58^A$
Ovopel ( $1 \text{ kus.kg}^{-1}$ )	$12327 \pm 6643^A$		$10840 \pm 3860^A$	$9,44 \pm 0,73^A$		$96,9 \pm 1,59^B$

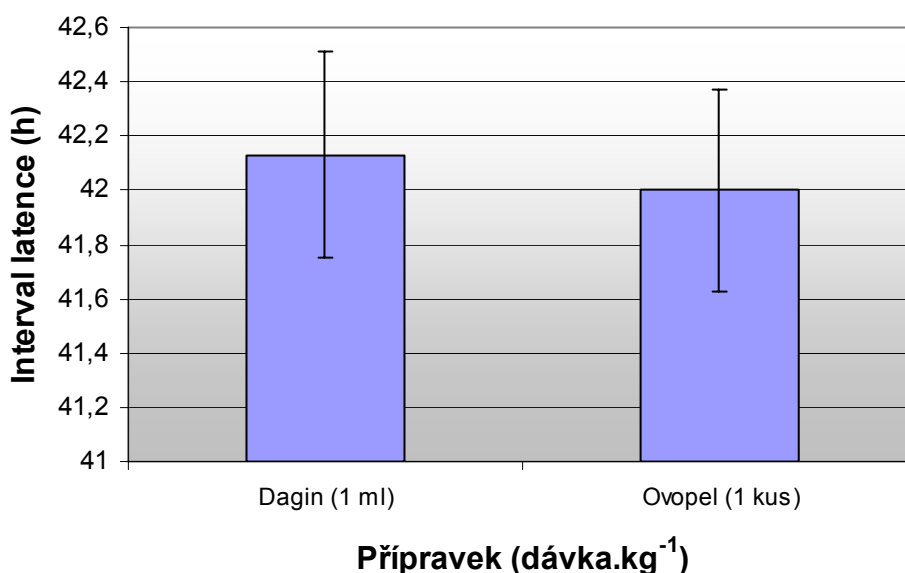
Legenda: Shodnými písmeny označené hodnoty znamenají, že rozdíly mezi nimi nejsou statisticky signifikantní.

Tab. 5: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček parmy obecné (rok 2006).

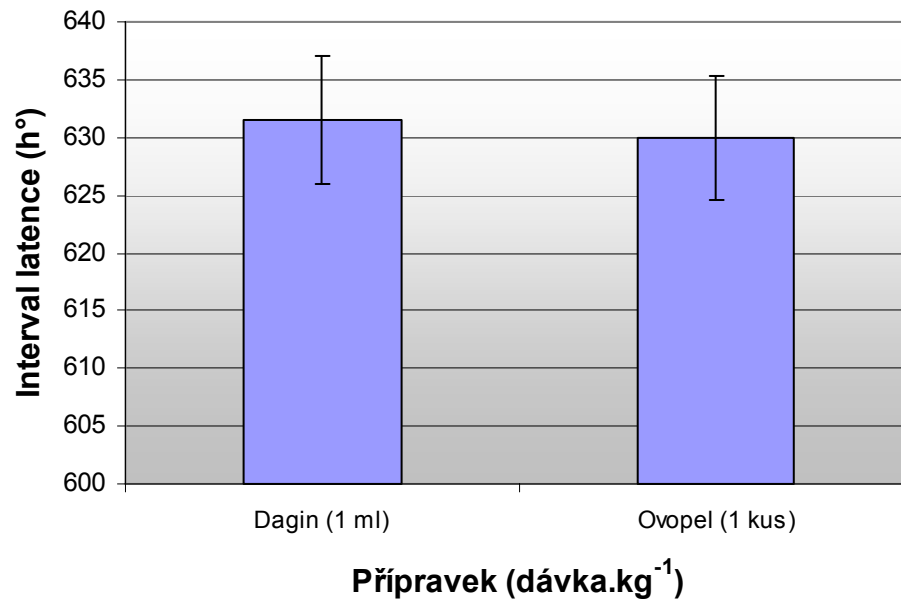


Obr. 10: Relativní hmotnost vytřených jiker v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce II.

Obr. 10 a tab. 5 znázorňuje relativní hmotnost vytřených jiker jenž dosáhla hodnoty  $10,82 \pm 2,62$  % u Dagingu a při použití Ovopelu  $10,15 \pm 3,62$  %. Rozdíly mezi relativní hmotností vytřených jiker u jikernaček injikovaných Dagingem, respektive Ovopelem nejsou statisticky signifikantní.

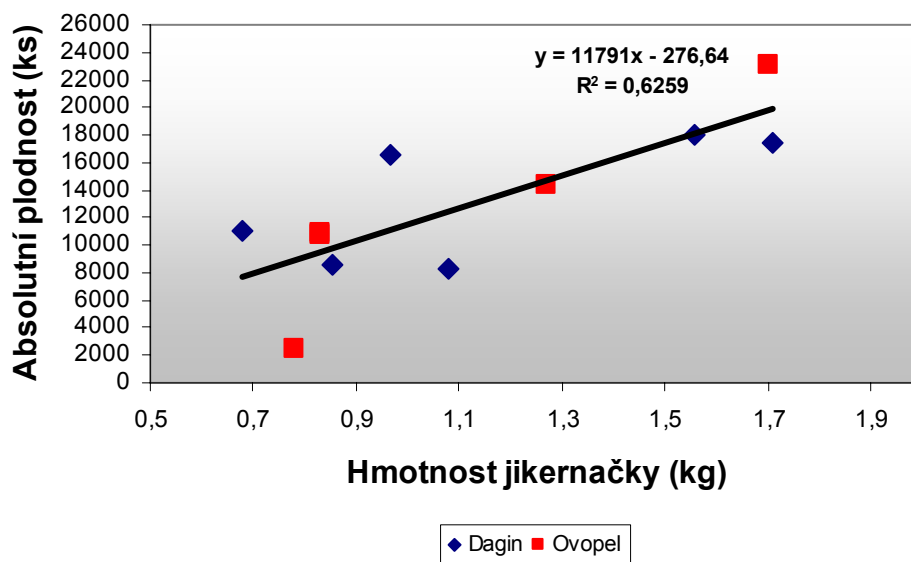


Obr. 11: Interval latence (h) v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce II.



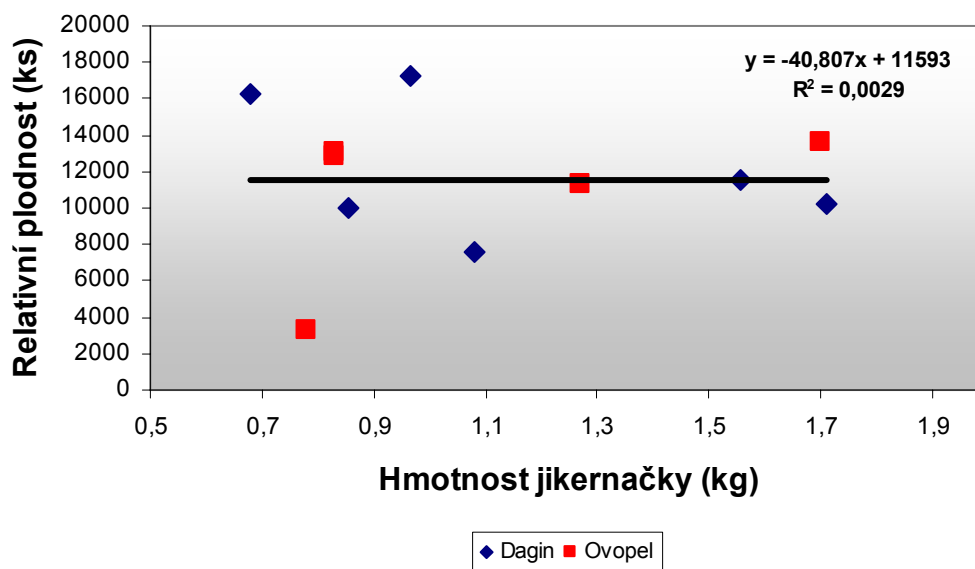
Obr. 12: Interval latence (h°) v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce II.

Průměrná délka intervalu latence (časového intervalu od injekce do ovulace) činila  $42,13 \pm 0,38$  h pro Dagin a  $42,0 \pm 0,37$  h pro Ovopel ( $632 \pm 6$ , respektive  $630 \pm 5$  h°). Rozdíly mezi délkou intervalu latence u jikernaček injikovaných Daginem, respektive Ovopelem nejsou statisticky signifikantní. Tyto hodnoty jsou zřejmé z obr. 11; 12 a tab. 5.



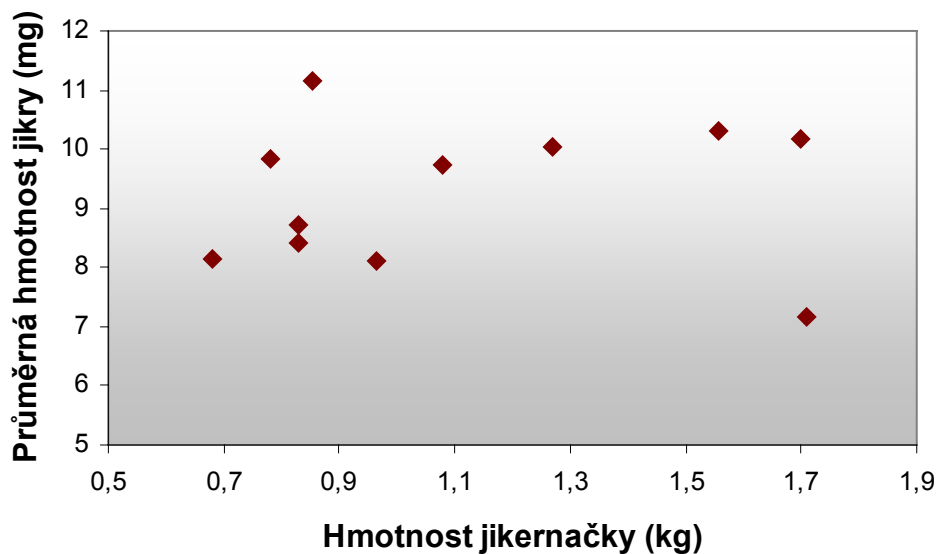
Obr. 13: Absolutní plodnost v závislosti na hmotnosti jikernaček.

Absolutní plodnost všech vytřených jikernaček dosahovala 2 540 - 23 080 ks jiker (průměrná hodnota pro Dagin 13 305 ± 4 152 a pro Ovopel 12 327 ± 6 643 ks). Rozdíly mezi absolutní plodností u jikernaček injikovaných Daginem, respektive Ovopelem nejsou statisticky signifikantní (obr. 13 a tab. 5).



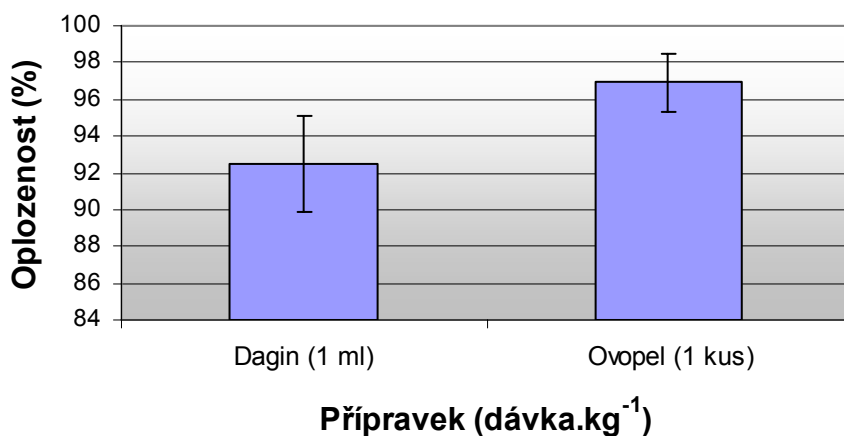
Obr. 14: Relativní plodnost v závislosti na hmotnosti jikernaček.

Relativní plodnost všech vytřených jikernaček kolísala v rozpětí 3 260 - 17 240 ks jiker.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky (průměrná hodnota pro Dagin 12 140 ± 3 470 a pro Ovopel 10 840 ± 3 860 ks.kg<sup>-1</sup>). Z velice nízkého koeficientu determinace (0,0029) vyplývá, že závislost relativní plodnosti na hmotnosti jikernaček není lineární. Rozdíly mezi relativní plodností u jikernaček injikovaných Daginem, respektive Ovopelem nejsou statisticky signifikantní (obr. 14 a tab. 5).



Obr. 15: Průměrná hmotnost jedné jikry v závislosti na hmotnosti jikernaček.

Průměrná hmotnost jedné vytřené jikry včetně ovariální tekutiny činila 7,17 - 11,14 mg (průměr u Dagingu  $9,01 \pm 1,39$  a u Ovopelu  $9,44 \pm 0,73$  mg). Rozdíly v průměrné hmotnosti jedné vytřené jikry u jikernaček injikovaných Dagingem, respektive Ovopelem nejsou statisticky signifikantní (obr. 15 a tab. 5).



Obr. 16: Oplozenost v závislosti na použitém přípravku a jeho dávce.

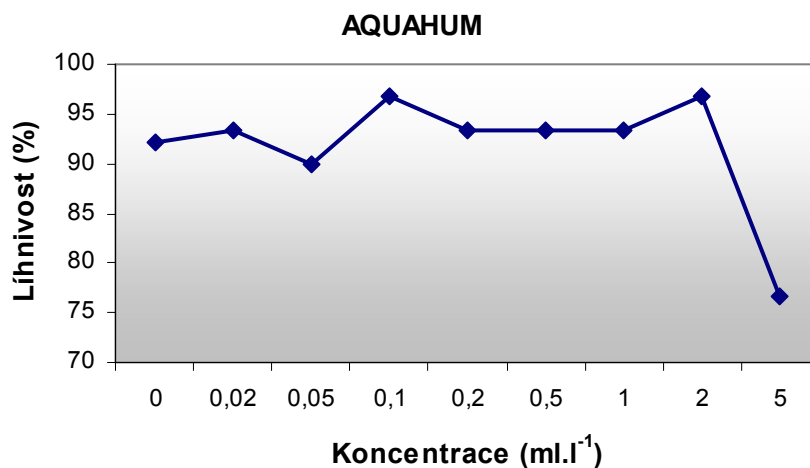
Relativně větší rozdíl mezi přípravky byl zjištěn u oplozenosti jiker. Ta se u jednotlivých jikernaček pohybovala od 89,3 do 99 % (konkrétně u Dagingu  $92,5 \pm 2,58$  a u Ovopelu  $96,9 \pm 1,59$  %). Rozdíly mezi oplozeností u jikernaček injikovaných Dagingem, respektive Ovopelem jsou statisticky signifikantní (obr. 16 a tab. 5).



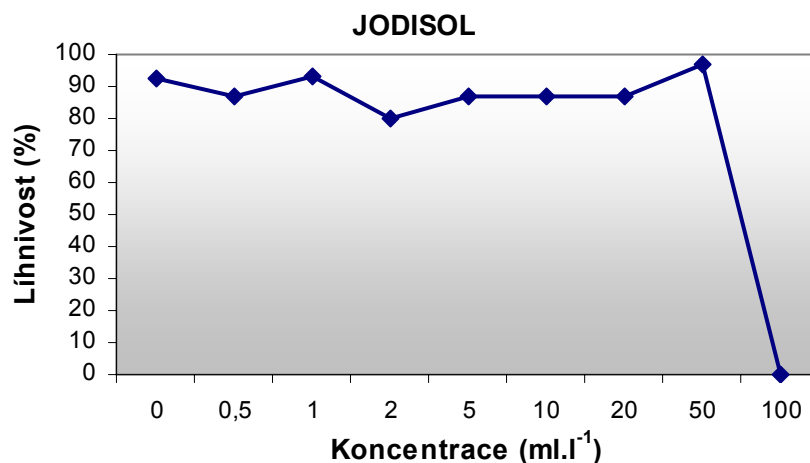
## 4.2. Antimykotické koupele jiker

### První pokus s antimykotickými koupelemi jiker

Při testování antimykotických koupelí jiker parmy obecné v roztoku Aquahumu a Jodisolu dosáhla líhnivost v kontrole  $92,2 \pm 6,9$  %. U aplikovaných 5 minutových koupelí bylo absolutně nejvyšší líhnivosti (96,7 %) dosaženo u roztoku Jodisolu (koncentrace  $50 \text{ ml.l}^{-1}$ ) a Aquahumu ( $0,1$  a  $2 \text{ ml.l}^{-1}$ ). 0 % líhnivost byla zjištěna u Jodisolu o koncentraci  $100 \text{ ml.l}^{-1}$ . Nejnižší líhnivost při užití Aquahumu byla 76,7 % (nejvyšší koncentrace  $5 \text{ ml.l}^{-1}$ ). Z dosažených výsledků vyplývá, že jikry parmy obecné jsou vůči toxickým účinkům antimykotických koupelí poměrně odolné. Výše uvedené údaje jsou zřejmé z obr. 17 a 18.



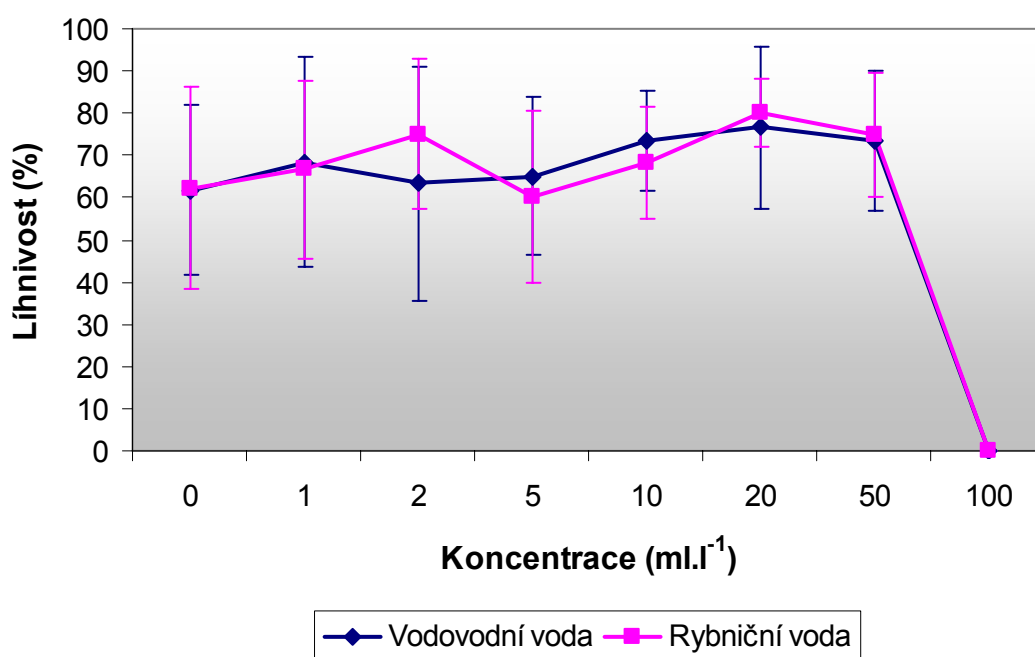
Obr. 17: Líhnivost jiker parmy obecné ošetřovaných koupelemi v roztoku Aquahumu.



Obr. 18: Líhnivost jiker parmy obecné ošetřovaných koupelemi v roztoku Jodisolu.

## Druhý pokus s antimykotickými koupelemi jiker

U třikrát opakovaného experimentu s 5 minutovými denními koupelemi jiker parmy v roztoku Jodisolu za použití vodovodní, respektive rybníční vody při inkubaci dosáhla líhnivost u kontroly  $61,7 \pm 20,1$  % (vodovodní voda) a  $62,2 \pm 24,0$  % (rybníční voda). Nejvyšších hodnot líhnivosti bylo shodně docíleno u koncentrace Jodisolu  $20 \text{ ml.l}^{-1}$ , konkrétně u rybníční vody  $80,0 \pm 8,2$  % líhnivost a u vody vodovodní  $76,7 \pm 19,3$  % líhnivost. Ke 100 % mortalitě jiker (0 % líhnivosti) došlo vždy u nejvyšší koncentrace Jodisolu ( $100 \text{ ml.l}^{-1}$ ). Ze zjištěných údajů lze k antimykotickým koupelím jiker parmy obecně doporučit roztoky Jodisolu v koncentracích 2 - 50  $\text{ml.l}^{-1}$ . Uvedené údaje názorně vystihuje obr. 19.



Obr. 19: Průměrná líhnivost jiker parmy ošetřovaných koupelemi v roztoku Jodisolu při inkubaci ve vodovodní a rybníční vodě.

## 5. DISKUZE

### 5.1. Hormonálně indukovaný umělý výtěr

Z provedených experimentů vyplývá, že nejlepších a plně uspokojujících výsledků nejdůležitějších sledovaných parametrů (% ovulujících a úspěšně uměle vytřených jikernaček a relativní hmotnost vytřených jiker) bylo dosaženo při použití přípravků Dagin v dávce  $1 \text{ ml.kg}^{-1}$  a Ovopel v dávce  $1 \text{ kus.kg}^{-1}$  (u obou přípravků se jedná o kombinaci funkčního analogu GnRH a dopaminergního inhibitoru). S hodnotami relativní hmotnosti vytřených jiker docílených injikací těmito preparáty se také ztotožňuje výsledek dosažený podáním nejvyšší dávky ( $125 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) funkčního analogu GnRH Lecirelinu obsaženého v přípravku Supergestran. O poznání horší výsledky byly zjištěny u Lecirelinu ( $25$  a  $5 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) a kapří hypofýzy ( $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Jako srovnatelné, nebo účinnější než aplikace kapří hypofýzy se u mnoha rybích druhů (jeseter malý, lipan podhorní, štika obecná, lín obecný, kapr obecný, jelec jesen, amur bílý, perlín ostrobřichý, hrouzek obecný, podoustev říční, sumec velký, okoun říční, candát obecný a cípal dálněvýchodní) ukázalo použití funkčních analogů GnRH (Kouřil *et al.*, 2006). Efektivní výše dávek jednotlivých analogů GnRH pro vyvolání ovulace mezi jednotlivými druhy ryb se liší až o 2 řády. Nejvyšší potřebné dávky  $100 - 125 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  analogu GnRH Kobarelinu byly zjištěny pro jesetera malého a okouna říčního (Kouřil *et al.*, 2006). Zjištěná optimální účinná dávka Lecirelinu ( $125 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) k indukované ovulaci jikernaček parmy je nejvyšší ve srovnání s optimálními dávkami tohoto přípravku publikovanými pro jiné druhy ryb. Ve výši optimálních dávek Lecirelinu následují: okoun říční ( $50 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ), lipan podhorní, sumec velký a jelec jesen ( $10 - 20 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ), perlín ostrobřichý a lín obecný ( $1 - 5 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) (Kouřil *et al.*, 2006). O pozitivních účincích Ovopelu na hormonální stimulaci u kapra obecného upozornil Horváth *et al.* (1997). Účinnost Ovopelu byla též potvrzena u sumce velkého (Brzuska, 2001). Výjimku představuje tolstolobik bílý, u kterého nedošlo při aplikaci Lecirelinu, respektive Dagingu k ovulaci žádné jikernačky, naopak při podání kapří hypofýzy došlo k ovulaci u všech jikernaček (Kouřil *et al.*, 2006).

Zjištěné hodnoty relativní hmotnosti vytřených jiker u Dagingu ( $10,82 \pm 2,62 \%$ ), nejvyšší dávky Lecirelinu ( $10,54 \pm 1,81 \%$ ) a Ovopelu ( $10,15 \pm 3,62 \%$ ) jsou v souladu s rozpětí úrovně GSI udávaného Krupkou (1987) ( $4,4 - 16,1 \%$ ) a blízko dolní hranice rozpětí udávaného Hochmanem (1963) ( $14,1 - 18,5 \%$ ). V našem případě se vzhledem k umělému výtěru jedná pouze o hmotnosti jiker vytřené v první porci jiker, na rozdíl od hodnot

uváděných oběma výše uvedenými autory, jenž navíc zahrnují i hmotnost dalších výtěrových porcí jiker. Ve srovnání s výsledky relativní hmotnosti vytřených jiker dosaženými Kouřilem *et al.* (1988), který s jiným analogem GnRH docílil hodnot 4,75 - 9,45 %, respektive kapří hypofýzou 3,24 - 3,27 %, jsou námi dosažené průměrné hodnoty u úspěšných dávek vyšší.

Průměrná délka intervalu latence v experimentech činila u kontrolní skupiny při použití kapří hypofýzy 21,8 hodin (415 h°), při podání Lecirelinu dosáhla u jednotlivých skupin 35,9 - 38,1 hodin (683 - 724 h°). Tento rozdíl představuje navýšení přibližně o 60 - 70 % délky časového intervalu. U Daginiu a Ovpelu bylo díky nižší teplotě vody ovulace dosaženo až za 42,1 hodin (632 h°), respektive za 42 hodin (630 h°), což představuje z hlediska h° snížení intervalu latence o cca 10 % ve srovnání s Lecirelinem. Na rozdíl od našeho zjištění bývá u jiných druhů ryb (u nichž lze k dosažení ovulace alternativně použít jak kapří hypofýzu, tak ostatní námi injikované přípravky) tato diference menší. Například u lína obecného dosahuje pouze 40 - 50 % (Kouřil *et al.*, 2006). Zjištěné průměrné délky intervalů latence u jikernaček injikovaných analogy GnRH jsou v souladu s výsledky pokusů realizovaných u parmy Kouřilem *et al.* (1988), které činily 541 - 724 h°.

Námi zjištěné hodnoty relativní plodnosti se u Daginiu pohybovaly v průměru  $12\,140 \pm 3\,470$  ks jiker.kg<sup>-1</sup> (rozmezí 7 615 - 17 240 ks.kg<sup>-1</sup>), u Ovpelu  $10\,840 \pm 3\,860$  ks jiker.kg<sup>-1</sup> (rozmezí 3 260 - 13 580 ks.kg<sup>-1</sup>). Kouřil *et al.* (1988) dospěl ve svém experimentu s umělým výtěrem parmy k podobnému výsledku ( $10\,673 \pm 7\,227$  ks jiker.kg<sup>-1</sup>) u jikernaček ošetřených analogem GnRH.

Průměrná hmotnost jedné vytřené jikry od všech jikernaček v našem pokusu činila  $9,26 \pm 1,15$  mg (v rozpětí 7,17 - 11,14 mg). Při srovnání s průměrnou hmotností jedné vytřené jikry v pokusu Kouřila *et al.* (1988) ( $5,82 \pm 0,68$  mg) musíme ale dodat, že u našeho experimentu se jednalo o hmotnost jedné jikry včetně ovariální tekutiny, na rozdíl od pokusu z roku 1988, kdy se jednalo o průměrnou hmotnost jedné suché vytřené jikry.

Vyšší průměrná oplozenost jiker o cca 5 % byla zjištěna u přípravku Ovpel ( $96,9 \pm 2,6$  %) oproti Daginiu ( $92,5 \pm 2,6$  %). Dvořák (1982) dosáhl oplozenosti 30 - 90 % u jiker z umělého výtěru palem, které byly injikovány dvěma dávkami kapří hypofýzy.

I přes současné snahy nelze metodu řízené reprodukce parmy obecné odchovávané v kontrolovaných podmínkách prostředí (Policar *et al.*, 2007; Policar, ústní sdělení) považovat za plně využitelnou v praxi. Příčinou je nejen dlouhé reprodukční období v průběhu roku, ale především velký počet porcí jiker, malé množství jiker v jedné porci a nevyrovnaná kvalita vytřených jiker (vysoký podíl jiker neschopných oplození, respektive dalšího vývoje), jak ukazuje paralelně realizovaný výzkum ve VÚRH JU Vodňany. Proto se rozpracování

hormonálně indukovaného umělého výtěru jikernaček parmy odlovených v přirozeném prostředí tekoucích vod, jež je hlavní náplní předložené diplomové práce, jeví jako velmi aktuální a plně opodstatněné. Perspektivně lze předpokládat, že v budoucnu budou obě metody používány souběžně, respektive u generačních parám chovaných v zajetí budou uplatňovány metody založené na teplotní manipulaci (odchov generačních ryb v zimním období při nižších teplotách) a využití hormonální indukce ovulace pro časovou synchronizaci ovulace a umělého výtěru jednotlivých jikernaček.

Vzhledem ke zpravidla nepřilíš vysokému počtu na trdlišších přítomných a odlovených jikernaček parmy, které mají navíc odpovídající kvalitu důležitou pro výtěr, je uskutečnění rozsáhlejších jednorázových experimentů s umělou reprodukcí tohoto druhu velmi obtížné.

## 5.2. Antimykotické koupele jiker

Nejvyšších hodnot líhivosti bylo docíleno u koncentrace Jodisolu 20 ml.l<sup>-1</sup> (u rybníční vody 80,0 ± 8,2 %, u vody vodovodní 76,7 ± 19,3 %). Větší rozptyl hodnot líhivosti je pravděpodobně zapříčiněn různorodou kvalitou použitých jiker při jednotlivých opakováních a relativně malým počtem kusů jiker v každé koncentraci. Ke 100 % mortalitě jiker (0 % líhivosti) došlo vždy u nejvyšší koncentrace Jodisolu (100 ml.l<sup>-1</sup>). Vzhledem k předpokládané kontaminaci rybníční vody zárodky parazitických plísni se v této vodě očekávalo dosažení nižší líhivosti jiker. Toto se ale nepotvrdilo, druh použité vody k inkubaci jiker neměl v zásadě na líhivost vliv. Příčinou je pravděpodobně skutečnost, že pokusy probíhaly v chladném ročním období (březen), kdežto k rozvoji plísni je příhodnější teplejší část roku. Nelze vyloučit ani další možný důvod, že jikry parmy obecné mohou být vůči parazitickým plísním rezistentnější než jikry jiných druhů ryb. Proto je nutno dosažené výsledky hodnotit především z pohledu toxicity testovaných přípravků pro jikry parmy, nikoliv s ohledem na jejich antimykotickou účinnost.

Kouřil *et al.* (1996) ve svých experimentech zjistil účinné koncentrace Jodisolu (2 - 50 ml.l<sup>-1</sup>) pro kapra obecného a karasa zlatého při opakovaných 5 minutových koupelích. Tyto hodnoty jsou ve shodě se zjištěnými výsledky antimykotických koupelí u parmy obecné, přičemž nejvyšší líhivosti jiker parmy bylo dosaženo v prvním pokusu při koncentraci Jodisolu 50 ml.l<sup>-1</sup> a u druhého, třikrát opakovaného experimentu při koncentraci 20 ml.l<sup>-1</sup>. Kouřil a Hamáčková (1998) uvádějí doporučené koncentrace koupelí v roztoku Jodisolu při délce expozice 2 minut pro kapra obecného, karasa zlatého, lína obecného, bufala velkoustého, sumce velkého a sumečka afrického při teplotě vody 17 - 20 °C 5 - 10 ml.l<sup>-1</sup>,

při teplotě vody 20 - 22 °C 3 - 5 ml.l<sup>-1</sup> a při teplotě vody 22 - 25 °C 2 - 3 ml.l<sup>-1</sup>. Dle stejných autorů nemělo případné prodloužení délky expozice až na 5 minut ve většině případů negativní účinek na snížení líhnivosti jiker v důsledku toxicity, neprojevovalo se ale ani zvýšení účinku na tlumení rozvoje plísní. Příčiny tolerance jiker parmy k vyšším koncentracím jododetergentního přípravku Jodisol (případně v kombinaci s delší dobou expozice - 5 minut u parmy namísto 2 minut u jiných, výše uvedených druhů ryb (Kouřil *et al.*, 1996; Kouřil a Hamáčková, 1998)) mohou být: nižší teplota vody při inkubaci jiker, vyšší odolnost (tolerance) jiker či kombinace obou dvou příčin.

## 6. ZÁVĚR

Experimenty uvedené v diplomové práci přinesly několik zcela originálních výsledků týkajících se optimalizace způsobu hormonální indukce ovulace jikernaček parmy obecné a možnosti antimykotických koupelí jiker tohoto, za posledních zhruba třicet let, z našich vodních toků rapidně ubývajícího rybího druhu. Dokladem poklesu populací parmy je také skutečnost, že námi realizované umělé výtěry, při kterých jsme měli k dispozici pouze 25, respektive 11 kusů jikernaček odlovených z volných vod, patří bezesporu mezi největší jednorázové výtěry parmy obecné v České republice. Východiskem z této znepokojující a alarmující situace se jeví právě optimalizovaný umělý výtěr, produkce plůdku a násad či chov vlastního generačního hejna v kontrolovaných podmínkách prostředí.

V rámci dvouletých experimentů byla úspěšně ověřena možnost jednorázového použití třech různých hormonálních přípravků k hormonální indukci ovulace jikernaček parmy odlovených z volných vod ve vrcholném stádiu zralosti. U přípravku Supergestran, obsahujícího účinnou látku Lecirelin (analog GnRH), používaného v ČR k synchronizaci říje teplokrevných zvířat, byla při pokusech s různými dávkami zjištěna optimální dávka ve výši  $125 \mu\text{g.kg}^{-1}$ . Tyto výsledky dosažené v prvním roce pokusů byly publikovány (Kouřil, Hájek a Barth, 2006). U dalších dvou kombinovaných přípravků (obsahujících vedle funkčního analogu GnRH ještě dopaminergní inhibitor), vyráběných v zahraničí speciálně pro indukci ovulace u ryb, bylo použito doporučené výše dávky pro jiné druhy ryb. Tyto dávky se ukázaly jako dostatečné, konkrétně u izraelského přípravku Dagin dávka  $1 \text{ ml.kg}^{-1}$  a u maďarského přípravku Ovopel dávka  $1 \text{ kus.kg}^{-1}$ .

Byla testována tolerance jiker parmy inkubovaných v experimentálních podmínkách ke dvěma přípravkům s předpokládaným antimykotickým účinkem. U osvědčeného jododetergentního přípravku Jodisol, v současnosti úspěšně používaného při umělé inkubaci jiker jiných druhů ryb (jako náhrada za dříve používanou malachitovou zeleň, nevhodnou z hygienických aj. důvodů), byla zjištěna poměrně vysoká tolerance v rozpětí koncentrací  $2 - 50 \text{ ml.l}^{-1}$  (při každodenní 5 minutové expozici). Orientačně byla vyhodnocena tolerance k novému českému přípravku Aquahum (zjištěna tolerance v rozpětí  $0,02 - 2 \text{ ml.l}^{-1}$ , při každodenní 5 minutové expozici).

Výsledky dosažené v rámci diplomové práce (zejména hormonálně indukovaná umělá reprodukce jikernaček) dávají dobrý předpoklad pro zavedení do praxe s cílem přispět k aktivní ochraně mizejícího rybího druhu - parmy obecné.

## 7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Anonymus, 2003: Isofloxythepin. [online]. [cit. 10-11-2006].

[http://www.psychotropics.dk/usr\\_view\\_molecule.asp?ID=1707&backurl=Codeindex%2Fview%5FCodes%2Easp%3FStartchar%3DV&backurlname=Code+numbers&historyline=&Catalogtype=A](http://www.psychotropics.dk/usr_view_molecule.asp?ID=1707&backurl=Codeindex%2Fview%5FCodes%2Easp%3FStartchar%3DV&backurlname=Code+numbers&historyline=&Catalogtype=A).

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

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

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

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

Baruš, V., Oliva, O., 1995: Mihulovci *Petromyzontes* a ryby *Osteichthyes* (2). Praha, Academia.: 133-141.

Bodareu, N. N., 1977: Biologia usača (*Barbus barbus* L.) bassejna Dnestera i puti vosproizvodstva jeho zapasov v svjazi s gidrostitel'stvom. Autoreferát disertace, Leningrad.: 24.

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

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

Bürger, D., 1930: Merkblatt über die künstliche Erbrütung von Nasen (*Chondrostema nasus* L.) und Barben (*Barbus fluviatilis* Ag.). Allg. Fisch. Ztg., 55 (1): 11.



- Cooperative Team, 1975: Experiments on inducement of spawning in domestic fish by injection of synthetized luteinizing hormone – releasing hormone (LH-RH). *Kexue Tongbao*, 20: 43-48.
- Čihař, J., Malý, J., 1978: Sladkovodní ryby. Praha, SZN.: 189.
- Donaldson, E. M., Hunter, C. A., Dye, H. M., 1981: Induced ovulation in pacific salmon using LH-RH analog of salmon gonadotropin. 9<sup>th</sup> Int. Symp. Comp. Endocrinol. (abstr.), s. 137.
- Dorko, J., 1963: Morfologicko-systematická charakteristika rodu *Barbus* z Ondavy. *Zb. Ped. inšt. Prešov, Prír. vedy*, 1: 69-82.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003: *Obecné rybářství*. Praha, Informatorium.: 308.
- Dvořák, J., 1982: Umělý výtěr a odchov parmy. *Rybářství*, 3: 53-54.
- Gerbil'skij, N. L., 1941: Metod gipofyzarnych injekcij i ego rol' v rybovodstve. In: *Metod gipofyzarnych injekcij i ego rol' v vosproizvodstve rybnych zapasov*. Leningrad, s. 5-36.
- Goetz, F. W., Berndson, A. K., Rajnan, M., 1991: Ovulation: mediators at the ovarian levels. In: *Vertebrate Endocrinology: Fundamantal and Biomedical Implications*, vol. 4A (eds. Pang, P. K. T., Schreibman, M. P.), Acad. Press, New York and London, s. 127-203.
- Haffray, P., Enright, W. J., Driancourt, M. A., Mikolajczyk, T., Rault, P., Breton, B., 2005: Optimization of breeding of Salmonids: Gonazon<sup>TM</sup>, the first officially approved inducer of ovulation in the EU. *World Aquaculture*, 36 (1): 52-56.
- Hanel, L., 1992: *Poznáváme naše ryby*. Praha, Brázda.: 285.
- Hasler, A. D., 1939: Spawning induced prematurely in trout with the aid of pituitary glands of the carp. *Endocrinol.* 25: 978-982.
- Havlena, F., 1964: Príspevok k štúdiu veku a rastu mreny *Barbus barbus* (L.) z povodia Oravskej údolnej nádrže. *Folia Zool, Brno*, 13 (4): 321-326.
- Hermani, Tangendaja, B., 1988: Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secara kromatogrifi. *Media Penelitian Sukamandi*, 6: 57-65 (in Indonesian).
- Hochman, L., 1955: Příspěvek k poznání růstu a potravy parmy obecné (*Barbus barbus* L.) v řece Svratce. *Sb. VŠZL, Brno, ř. A*, 2: 147-159.

- Hochman, L., 1963: Zkusme získat vlastní plůdek parmy. Čs. rybářství. 2: 23-24.
- Horváth, L., Tamás, G., Tolg, I., 1984: Special methods fish husbandry. Budapest. Akademiai Kiadó.
- Horváth, L., Tamás, G., Seagrave, Ch., 1992: Carp and pond fish culture. Including Chinese herbivorous species, pike, tench, yander, wels, catfish and golfish. Oxford. Fishing News Book.
- Horváth, L., Szabó, T., Burke, J., 1997: Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinidae species. Pol. Arch. Hydrobiol., 44: 221-226.
- Hulová, I., Barthová, J., Entlicher, G., Maletínská, L., Barth, T., Hrbas, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., 1994: The FPLC of soluble proteins from dehydrated carp hypophysis. Measures for success, Bordeaux Aquaculture, 24: 156-157.
- Jakubowski, H., Jakucewicz, H., 1986: Rozród brzany i uzyskanie wylegu w kontrolowanych warunkach w rzece. Gosp. rybna, 4: 13-14.
- Jalabert, B., Breton, B., Brzuska, E., 1977: A new tool for induced spawning: the use of 17-hydroxy-20-dihydroxyprogesterone to spawn carp at low temperature. Aquaculture, 10: 353-354.
- Kazuń, K., Siwicki, A. K., Glabski, E., 1999: Badania nad przydatnością preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego ryb karpiovatych. IV. Krajowa konferencja hodowców karpia, Kiekrz, Wydawnictwo IRS Olsztyn, s 57-60.
- Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., Soto, C. G., 1998: The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29: 89-101.
- Khan, I. A., Thomas, P., 1992: Stimulatory effects of serotonin on maturational gonadotropin release in the Atlantic croaker, *Micropogonias undulatus*. Gen. Comp. Endocrinol., 88: 388-396.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., Nepejchalová, L., Velíšek, J., Plačková, V., 2006: Anestezie ryb v České republice. Bul. VÚRH Vodňany, 42 (3): 105-108.
- Kouřil, J., Barth, T., 1981: Docílení ovulace jiker pomocí LH-RH při umělém výtěru lína obecného (*Tinca tinca* L.). Bul. VÚRH Vodňany, 17 (1): 13-18.

- Kouřil, J., Slaninová, J., Servítová, L., Barth, T., Flegel, M., 1982: Induced spawning of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) by means of LH-RH. In: Proc. 2nd International Symposium on Herbivorous Fish, Novi Sad (Yugoslavia), s. 70-75.
- Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., Macháček, K., Hrbas, P., Píchová, J., Pícha, J., 1985: Indukovaná ovulace kapra a lína: použití rozpustné frakce nativní a dehydrované hypofýzy. Bul. VÚRH Vodňany, 21(1): 13-20.
- Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., Flegel, M., Příkryl, I., 1986: Indukovaný výtěr jikernaček lína obecného (*Tinca tinca* L.) při injekčním podání hypofýzy a analogu LH-RH na různá místa rybního těla. Buletin VÚRH Vodňany 2: 30-39.
- Kouřil, J., Filla, V., Šandera, K., Barth, T., Flegel, M., 1988: Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček parmy obecné (*Barbus barbus* L.) pomocí kapří hypofýzy a analogu LH-RH. Bul. VÚRH Vodňany, 3: 18-25.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1991: Citlivost jiker kapra k jododetergentnímu antimykotickému přípravku Wescodyne. In: Sb. Metodika testů toxicity a biodegradability látek významných ve vodním hospodářství; Vodňany, VÚRH, Ostrava, ČSVTS, s. 114-118.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1992: Citlivost jiker kapra obecného (*Cyprinus carpio*), lína obecného (*Tinca tinca*), sumce velkého (*Silurus glanis*) a sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) ke koupelím v roztocích malachitové zeleně a Wescodyne v průběhu inkubace. In: Sb. Reprodukce ryb '92; Vodňany, VÚRH, s. 137-141.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1993: Toxicita dvou antimykotických přípravků pro rybí jikry a metodické zvláštnosti jejího stanovení. In: Máchová, J., Vykusová, B., Svobodová, Z. (eds.): Sb. Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Vodňany, VÚRH, Ostrava, Aquachemie, s. 44-49.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1994: The sensitivity of tench eggs and larvae (*Tinca tinca* L.) to preventive antimycotic, antibacterial and antiparasitic baths (Abstr.). In: Flajšhans, M. (ed.): International Workshop on Biology and Culture of the Tench (*Tinca tinca* L.); Vodňany, VÚRH, 1 p.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1995: Vliv teploty vody na citlivost jiker kapra obecného a sumce velkého k preventivním antimykotickým koupelím v roztocích jododetergentního přípravku Wescodyne. Sb. konf. Toxicita a biodegradabilita látek ovlivňujících vodní prostředí (12.-15. června 1995, Milenovice), VÚRH Vodňany, s. 156-160.

- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1996: Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček lína obecného (*Tinca tinca* L.) pomocí syntetických analogů GnRH. In: Flajšhans, M. (Ed.): Sborník vědeckých prací k 75. výročí založení VÚRH. VÚRH JU Vodňany, s. 47-58.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Kozák, P., 1996: Účinek opakovaných koupelí v roztocích malachitové zeleně, Wescodyne a Jodisolu na líhnivost jiker štiky obecné, kapra obecného a karasa zlatého. Bull. VÚRH Vodňany, 1:16-25.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Kozák, P., 1997: Vliv teploty vody na citlivost jiker lína obecného (*Tinca tinca*) ke koupelím v malachitové zeleni a dvou jododetergentních preparátech. Ve : Vykusová, B., Svobodová, Z., Kolářová, J. (eds.): Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí (sborník referátů z 8. Konference), Vodňany, VÚRH JU, Ostrava, Aquachemie, s.155-160.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1998 a: Hormonally induced artificial propagation of ide *Leuciscus idus* L. by means of carp pituitary. Proc. International Conf. Aquaculture Europe 98, Bordeaux, France, "Aquaculture and water: fish culture, shellfish culture and water usage" (eds. Grizel, H., Kestemont, R.), EAS, Spec. Publ. No. 26, Oostende, Belgium, s. 143-144.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1998 b: Použití Jodisolu k prevenci mykóz jiker některých kaprovitých a dalších druhů ryb. Edice metodik, č. 57, 4 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Bartlová, J., 1999: Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik VÚRH Vodňany, č. 61: 4.
- Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., 2006: Hormonálně indukovaná umělá reprodukce ryb. In: Sb. Konf. Biotechnologie, České Budějovice.: 3.
- Kouřil, J., Hájek, J., Barth, T., 2006: Indukovaná ovulace a umělý výtěr jikernaček parmy říční (*Barbus barbus*) při použití různých dávek analogu GnRH. In: Vykusová, B. (ed.): IX. Česká ichtyologická konference. VÚRH JU Vodňany, s. 63-65.
- Krupka, I., 1985: Umelé rozmnožovanie a odchov plôdika mreny obyčajnej (*Barbus barbus* Linnaeus, 1758). Práce LRH Bratislava, 5: 178-197.
- Krupka, I., 1987: Umělý výtěr a odchov plůdku parmy. Edice metodik VÚRH Vodňany, č.23.
- Leitritz, E., Lewis, E. C., 1976: Trout and salmon culture (hatchery methods). Fish. Bull. Calif. Dep. Fish Game, 164, p. 197. Ex.: Aq. Sci., Fish., Abstr., 7.

- Linard, B., Anglade, I., Bennais, S., Sallbert, G., Navas, J. M., Baihanche, T., Pakdel, F., Jego, P., Valotaire, Y., Saligaut, C., Kah, O., 1995: Some insights into sex steroid feedback mechanisms in the trout. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Goetz, F. W., Thomas, P.), Fish Symp 95, Austin, s. 49-51.
- Lohöfener, E. W., 1926: Beitrag zur künstlichen Zucht der Barbe. Allg. Fisch. Ztg., 51 (13): 209-210.
- Lusk, S., 1996: Development and status of populations of *Barbus barbus* in the waters of the Czech Republic. Folia Zoologica, 45 (suppl.1): 39-46.
- Marking, L. L., Meyer, F. P., 1985: Are better fish anaesthetics needed in fisheries, 10 (6): 2-5.
- Matty, A. J., 1985: Fish Endocrinology. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Motloch, N. N., 2006: Iskustvennoje vosproizvodstvo ryb s prinimanijem Nerestina. Rybovodstvo i rybnoje chozjajstvo, 9: 26-33.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., 1998: Harperova biochemie. Jihočany, H&H: 568-583.
- Oliva, O., 1955: Příspěvky k systematické revisi některých našich ryb, část II. Čes. Nár. musea, Praha, 124 (2): 171-182.
- Pankhurst, N. W. 1994: Effect of gonadotropin releasing hormone analogue, human chorionic gonadotropin and gonadal steroids on milt volume in the New Zealand snapper *Pargus auratus* (Sparidae). Aquaculture, 125: 185-197.
- Pankhurst, N. W. 1995: Hormones and reproductive behaviour in male damselfish. Bull. Marin. Sci., 57: 569-581.
- Pankhurst, N. W., 1998: Reproduction. In: Biology of farmed fish (ed. Black, K. D, Pickering, A. D). Academy Press, Sheffield, s. 1-26.
- Pecha, O., 1981: Umělý chov štiky obecné. Ve: Sb. Reprodukce, genetika a hybridizace ryb, Vodňany, Slov. Zool. spol., ichtyologická sekce, s. 135-138.
- Peňáz, M., 1977: Population analysis of the barb, *Barbus barbus* from some Moravian rivers (Czechoslovakia). Acta Sci. Nat. Brno, 11 (7): 1-30.
- Philippard, J. C., Mélard, Ch., Poncin, P., 1989: Intensive culture of the common barbel, *Barbus barbus* (L.) for restocking. Aquaculture-A Biotechnology in progres, vol. 1: 483-491.

- Podubský, E., Štědranský, E., 1967: Pstruhařství a umělý chov ryb. Praha, SZN.: 250.
- Polícar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., Vorlíčková, P., 2007: Odchov roček parmy obecné (*Barbus barbus* L.) při použití různé potravy v kontrolovaných podmínkách. Bull. VÚRH Vodňany, 1: 34-46.
- Poncin, P., Melard, Ch., Philippart, J., 1987: Utilisation de la température et de la photopériode pour contrôler la maturation sexuelle en captivité de trois espèces de poissons cyprinidés européens: *Barbus barbus* (L.), *Leuciscus cephalus* (L.) et *Tinca tinca* (L.) – résultats préliminaires. Bull. Fr. pêche Piscic., 304: 1-12.
- Poncin, P., 1989: Effects of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.), reared at konstant temperature. Journal of Fish Biology, 35: 395-400.
- Poncin, P., Kühn, E. R., Vandorpe, G., Philippard, J. C., 1998: Gonadal and thyroid hormones in the barbel (*Barbus barbus*) during and outside short reproductive cycles. Folia Zoologica, 47 (suppl.1): 61-66.
- Ross, L. G., Ross, B., 1999: Anaesthetic and Sedative techniques for aquatic animals. Institute of aquaculture University of Stirling, s. 58-155.
- Soto, C. G., Burhanuddin, S., 1995: Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquaculture, 136: 149-152.
- Specker, J. L. a Sullivan, C. V., 1994: Vitellogenesis in fishes: Status and perspectives. In: Perspectives in Comparative Endocrinology (eds. Davey, K. G., Peter, E. E., Tobe, S. S.), Nat. Res. Council. Can., Ottawa, s. 304-315.
- Summerfelt, R. C., Smith, L. S., 1990: Anaesthesia surgery and related techniques. In: C. B. Schreck, P. B. Moyle (ed.) Methods for fish biology. Am. Fish. Soc., Bethesda, Maryland, s. 213-275.
- Svoboda, M., Kolářová, J., 1999: Přehled anestetik používaných v chovech ryb. In: Ochrana zdraví akvariálních ryb. VÚRH JU Vodňany, s. 49-72.
- Swanson, P., 1991: Salmon gonadotropins: reconciling old and new ideas. In: Reproductive Physiology of Fish, FishSymp 91, Sheffield, s. 2-7.
- Šlechtová, V., Šlechta, V., Lusková, V., Lusk, S., Berrebi, P., 1998: Genetic variability of common barbel, *Barbus barbus* populations in the Czech Republic. Folia Zoologica, 47 (suppl.1): 21-33.

- Tamás, G., Horváth, L., 1984: Propagation and intensive larval rearing of common carp and asian herbivorous fishes and tench. In: Halver, J.E. (ed.): Special method in pond fish husbandry. Seattle, Halver Corporation, 54 s.
- Terofal, F., 1997: Sladkovodní ryby v evropských vodách. Praha, Ikar.: 108.
- The polypeptide group, 1976: The stimulatory effect of a synthetic analogue of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone (LRH) on spawning in „domestic fishes“. Acta Biochim. Biophys. Sinica, s. 107-114.
- Thomas, P., 1994: Hormonal control of final oocyte maturation in scianid fishes. In: Perspectives in Comparative Endocrinogy (ed. Davey, K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S.), Nat. Res. Counc. Can., s. 619-625.
- Trudeau, V. L., Sloley, B. D., Wong, A. O. L., Peter, R. E., 1991: Mechanisms of sex steroid negative and positive feedback control of gonadotropin (GtH) secretion in teleosts. In: Reproductive Physiology of Fish (eds. Scott, A. P., Sumpter, J. P., Kime, D. E., Rolfe, M. S.), FishSymp 91, Sheffield, s. 224-226.
- Trzebiatowski, R., Stepanowska, K., Siwicki, A. K., Kazuń, K., 1996: Badania nad przydatnoscia preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego suma europejskiego. Komunikaty Rybackie (Olsztyn), s. 14-18.
- Van der Kraak, G., 1983: Effects of LH-RH and des-Gly<sup>10</sup>(D-Ala)LH-RH ethylamide on plasma gonadotropin levels and oocyte maturation in adult females coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Gen. Comp. Endocrinol., 49: 470-476.
- Vinklarčík, O., 1977: Umělý výtěr tlouště a parmy. Čs. Rybářství, 8: 150-151.
- Vladykov, V., 1931: Les poissons de la Russie Sous-Carpathique (Tchécoslovaquie). Mém. Soc. Zool. France, 29 (4): 217-374.
- Von Ihering, R., 1937: A method for inducing fish to spawn. Prog.Fish-Cult., 34: 15-16.
- Warren, R. G., 1983: Small Animal Anaesthesia. Mosbby. St Louis.: 367.
- Yaron, Z., 1995: Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. Aquaculture, 129: 49-73.

## 8. PŘÍLOHY

### PŘÍLOHA A - Hormonálně indukovaný umělý výtěr

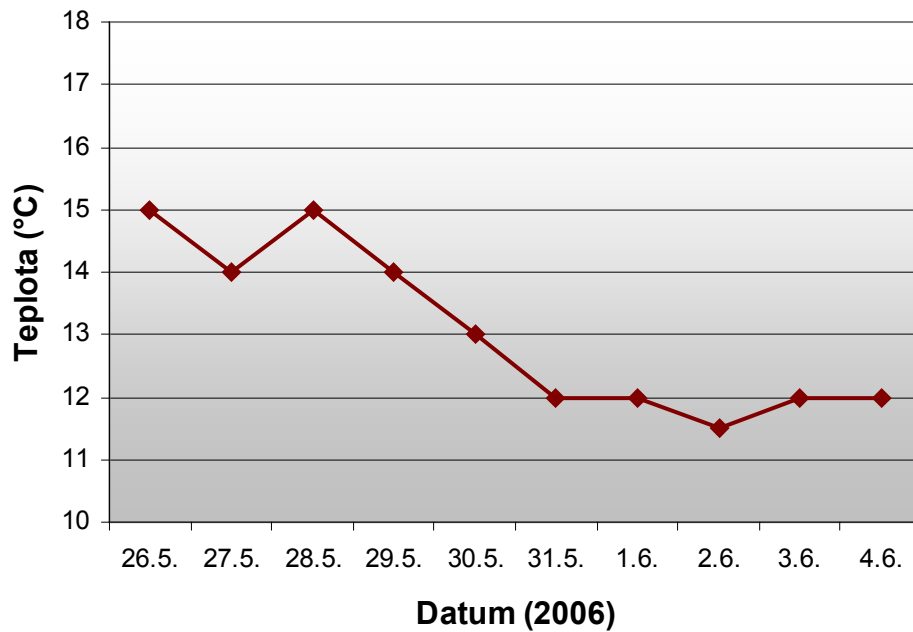
Přípravek (dávka)	Hmotnost ♀ (g)	Interval latence		Plodnost jikernaček		Pozn.
		(h)	(h°)	hm. jiker (g)	RHVJ (%)	
Kapří hypofýza (6 mg.kg <sup>-1</sup> )	900	21,75	413	20	2,22	
	1020	22	418	50	4,9	
	1420					bez ovul.
	610	21,75	413	20	3,28	
	1120					
<b>Průměr</b>	<b>1014</b>	<b>21,8</b>	<b>414,67</b>	<b>30</b>	<b>3,47</b>	
<b>SD</b>	<b>265</b>	<b>0,12</b>	<b>2,36</b>	<b>14,14</b>	<b>1,1</b>	
Supergestran (125 µg.kg <sup>-1</sup> )	1230	36	684	120	9,76	
	760	36	684	61	8,03	
	970	36	684	112	11,55	
	820	35,75	679	105	12,8	
	560					bez ovul.
<b>Průměr</b>	<b>868</b>	<b>35,94</b>	<b>682,75</b>	<b>99,5</b>	<b>10,54</b>	
<b>SD</b>	<b>224</b>	<b>0,11</b>	<b>2,17</b>	<b>22,85</b>	<b>1,81</b>	
Supergestran (25 µg.kg <sup>-1</sup> )	1650					bez ovul.
	810	40	760	10	1,23	
	760	36,25	688	51	6,71	
	760					bez ovul.
	690					bez ovul.
<b>Průměr</b>	<b>934</b>	<b>38,13</b>	<b>724</b>	<b>30,5</b>	<b>3,97</b>	
<b>SD</b>	<b>360</b>	<b>1,88</b>	<b>36</b>	<b>20,5</b>	<b>2,74</b>	
Supergestran (5 µg.kg <sup>-1</sup> )	910	36	684	93	10,22	
	840	36,25	688	10	1,19	
	940					bez ovul.
	1070					bez ovul.
	770					bez ovul.
<b>Průměr</b>	<b>906</b>	<b>36,13</b>	<b>686</b>	<b>51,5</b>	<b>5,71</b>	
<b>SD</b>	<b>101</b>	<b>0,13</b>	<b>2</b>	<b>41,5</b>	<b>4,52</b>	

Tab. A1: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru parmy obecné v roce 2005.

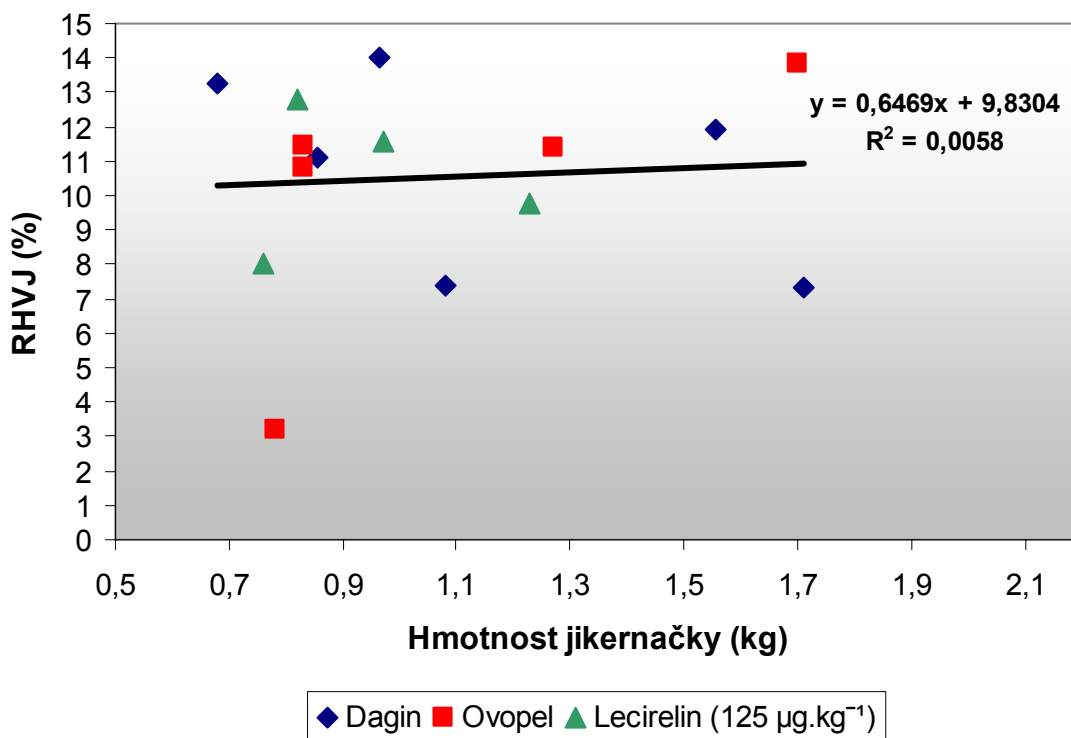


Přípravek (dávka)	Hmotnost ♀ (g)	Interval latence		Plodnost jikernaček				Průměr. hm. 1 jikry s ovariální t. (mg)	Oplozenost (%)
		(h)	(h°)	hm. jiker (g)	RHVJ (%)	relat. (ks/kg)	absolut. (ks)		
<b>Dagin</b> (1 ml.kg <sup>-1</sup> )	965	41,75	626	135	13,989	17240	16635	8,115	97,4
	1556	41,75	626	185	11,889	11540	17957	10,302	90,8
	1080	41,75	626	80	7,407	7615	8224	9,727	91,6
	855	42,5	637	95	11,111	9980	8529	11,138	93,8
	680	42,5	637	90	13,235	16260	11056	8,14	89,3
	1710	42,5	637	125	7,309	10190	17430	7,172	91,9
<b>Průměr</b>	<b>1141</b>	<b>42,13</b>	<b>631,5</b>	<b>118,3</b>	<b>10,82</b>	<b>12140</b>	<b>13305</b>	<b>9,01</b>	<b>92,5</b>
<b>SD</b>	<b>371</b>	<b>0,38</b>	<b>5,5</b>	<b>35,55</b>	<b>2,62</b>	<b>3470</b>	<b>4152</b>	<b>1,39</b>	<b>2,58</b>
<b>Ovopel</b> (1 kus.kg <sup>-1</sup> )	1700	41,75	626	235	13,823	13580	23084	10,18	99
	830	41,75	626	95	11,445	13135	10902	8,714	97,8
	1270	41,75	626	145	11,417	11360	14429	10,049	94,6
	830	42,5	637	90	10,843	12865	10678	8,428	97,6
	780	42,5	637	25 (část. ovul.)	3,205	3260	2540	9,84	95,6
<b>Průměr</b>	<b>1082</b>	<b>42</b>	<b>630</b>	<b>118</b>	<b>10,15</b>	<b>10840</b>	<b>12327</b>	<b>9,44</b>	<b>96,9</b>
<b>SD</b>	<b>357</b>	<b>0,37</b>	<b>5,39</b>	<b>69,83</b>	<b>3,62</b>	<b>3860</b>	<b>6643</b>	<b>0,73</b>	<b>1,59</b>

Tab. A2: Výsledky hormonálně indukovaného umělého výtěru parmy obecné v roce 2006.



Obr. A1: Průběh teploty vody při inkubaci jiker parmy obecné v roce 2006.



Obr. A2: Závislost relativní hmotnosti vytřených jiker na hmotnosti jikernaček (úspěšné dávky hormonálních preparátů).

**PŘÍLOHA B - Antimykotické koupele jiker**

Datum	Teplota vody (°C)	Poznámka konc.(ml.l <sup>-1</sup> )	Jednotlivé skupiny - jikry (ks) (K = kontrola, A = Aquahum, J = Jodisol)																		
			K1	K2	K3	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
			0	0	0	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	1	2	5	0,5	1	2	5	10	20	50	100
7.2.	14,5	Výtěr Inkubace																			
8.2.	17	Nasazeno 1. koupel	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
9.2.	17,5	Odběr odumř. 2. koupel	0	2	1	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0	0	0	1	0	0	12
10.2.	16,5	Odběr odumř. 3. koupel	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	2	0	1	2	2	1	1	0	13
11.2.	16,5	Odběr odumř. 4. koupel	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	5
12.2.	16,5	Odběr odumř. 5. koupel	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	
13.2.	17,5	Odběr odumř. 6. koupel	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
14.2.	17	Odběr odumř.	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0	
		Vylíhnuto	30	23	27	28	24	28	23	19	23	16	14	5	6	4	12	16	13	1	
15.2.	18	Odběr odumř.	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	2	3	0	0	0	0	0	0	
		Vylíhnuto celkem	30	25	28	28	27	29	28	28	28	29	23	26	28	24	26	26	26	29	
<b>Líhivost (%)</b>			<b>100</b>	<b>83,3</b>	<b>93,3</b>	<b>93,3</b>	<b>90</b>	<b>96,7</b>	<b>93,3</b>	<b>93,3</b>	<b>93,3</b>	<b>96,7</b>	<b>76,7</b>	<b>86,7</b>	<b>93,3</b>	<b>80</b>	<b>86,7</b>	<b>86,7</b>	<b>86,7</b>	<b>96,7</b>	<b>0</b>

Tab. B1: Výsledky antimykotických koupelí jiker parmy obecné v roztocích Aquahumu a Jodisolu.

Datum	Teplota vody (°C)	Poznámka	Jednotlivé skupiny - jikry (ks) (Jodisol: K = kontrola, V = vodovodní voda, R = rybníční voda)																			
			KV1	KV2	KV3	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	KR1	KR2	KR3	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
			konc.(ml.l <sup>-1</sup> )	0	0	0	1	2	5	10	20	50	100	0	0	0	1	2	5	10	20	50
13.2.	16	Výtěr Inkubace																				
14.2.	17	Nasazeno 1. koupel	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
15.2.	18	Odběr odumř. 2. koupel	1	1	1	1	1	0	0	0	1	14	0	0	0	0	0	1	2	0	0	10
16.2.	17	Odběr odumř. 3. koupel	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6	0	0	2	1	0	0	1	0	1	10
17.2.	17	Odběr odumř. 4. koupel	1	1	1	0	1	2	1	1	0		1	0	0	0	1	1	1	1	0	
18.2.	16	Odběr odumř. 5. koupel	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	1	0	0	0	0	1	1	
19.2.	16	Odběr odumř.	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	1	1	0	0	0	
		Vylíhnuto (celkem)	0	0	4	1	0	0	1	0	1		1	0	0	0	0	0	0	1	0	
20.2.	16,5	Odběr odumř.	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Vylíhnuto (celkem)	0	0	4	2	0	0	1	0	1		1	0	0	2	1	1	0	3	2	
21.4.	16,5	Odběr odumř.	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Vylíhnuto (celkem)	18	18	18	19	18	18	18	19	19		19	20	17	19	18	17	16	18	18	
<b>Líhivost (%)</b>			<b>90</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>95</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>95</b>	<b>95</b>	<b>0</b>	<b>95</b>	<b>100</b>	<b>85</b>	<b>95</b>	<b>90</b>	<b>85</b>	<b>80</b>	<b>90</b>	<b>90</b>	<b>0</b>

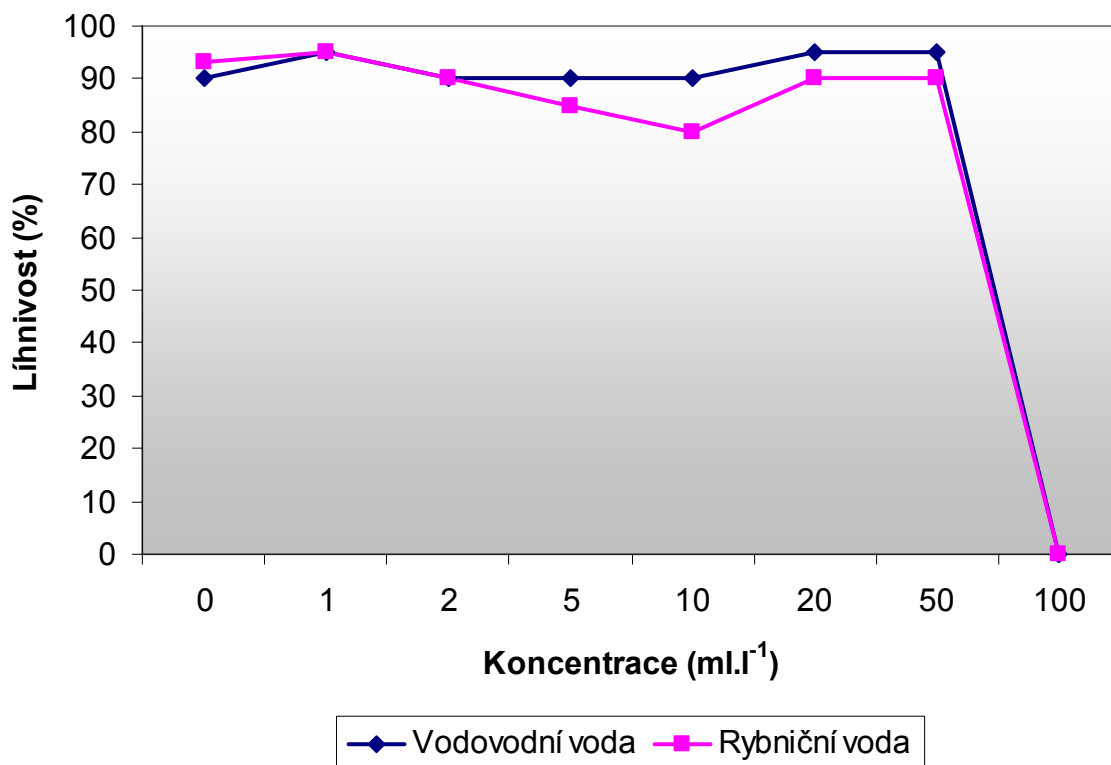
Tab. B2: Výsledky antimykotických koupelí jiker parmy obecné v roztoku Jodisolu (první opakování).

Datum	Teplota vody (°C)	Poznámka	Jednotlivé skupiny - jikry (ks) (Jodisol: K = kontrola, V = vodovodní voda, R = rybníční voda)																			
			KV1	KV2	KV3	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	KR1	KR2	KR3	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
			konc.(ml.l <sup>-1</sup> )	0	0	0	1	2	5	10	20	50	100	0	0	0	1	2	5	10	20	50
23.3.	16	Výtěr Inkubace																				
24.3.	17	Nasazeno 1. koupel	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
25.3.	17	Odběr odumř. 2. koupel	0	4	1	2	0	1	2	0	1	13	3	1	0	2	0	1	2	0	0	14
26.3.	17,5	Odběr odumř. 3. koupel	0	2	1	0	0	2	0	0	0	7	2	0	0	0	0	1	1	1	0	6
27.3.	17,5	Odběr odumř. 4. koupel	4	6	5	3	4	3	3	3	2		4	4	3	3	2	2	2	1	0	
28.3.	17	Odběr odumř. 5. koupel	0	0	3	0	1	1	2	0	2		2	2	2	3	1	3	0	1	2	
29.3.	17	Odběr odumř.	0	0	1	0	0	1	0	0	1		0	0	1	0	0	1	0	1	2	
		Vylíhnuto (celkem)	3	6	9	10	5	3	5	1	0		7	11	11	5	3	8	3	2	7	
30.3.	17,5	Odběr odumř.	0	0	0	0	0	0	0	0	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Vylíhnuto (celkem)	13	8	9	15	15	12	13	17	14		8	13	14	12	17	12	15	16	16	
<b>Líhivost (%)</b>			<b>65</b>	<b>40</b>	<b>45</b>	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>60</b>	<b>65</b>	<b>85</b>	<b>70</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>65</b>	<b>70</b>	<b>60</b>	<b>85</b>	<b>60</b>	<b>75</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>0</b>

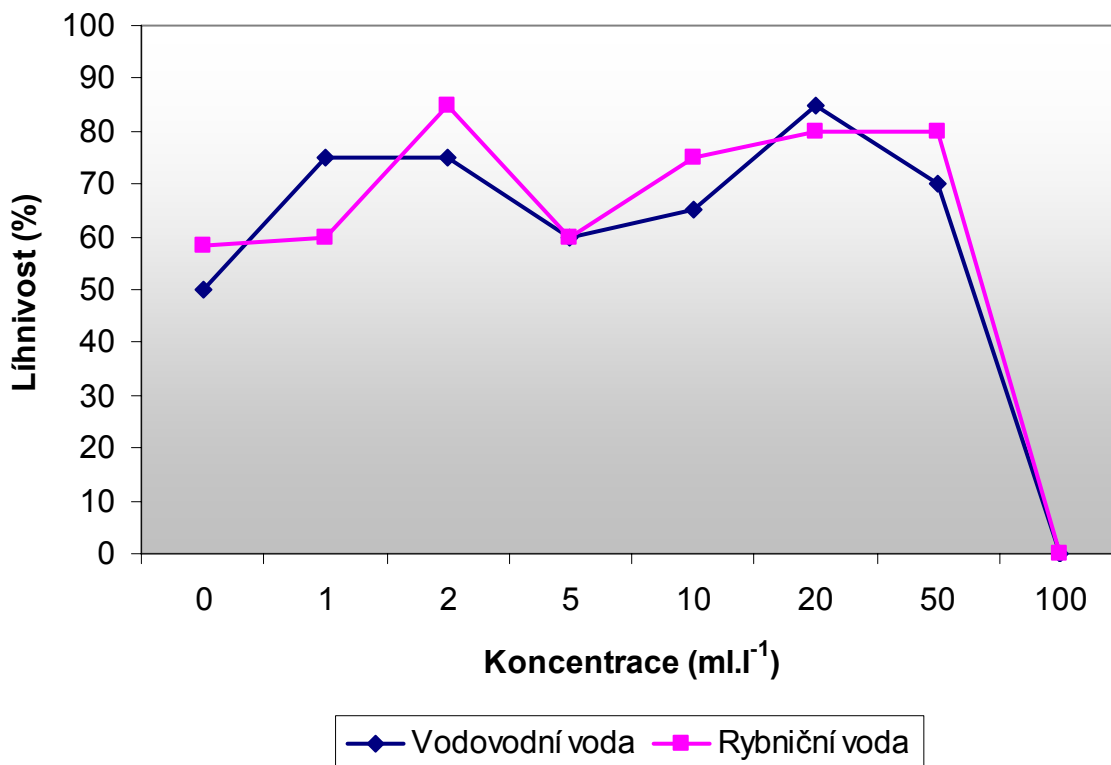
Tab. B3: Výsledky antimykotických koupelí jiker parmy obecné v roztoku Jodisolu (druhé opakování).

Datum	Teplota vody (°C)	Poznámka konc.(ml.l <sup>-1</sup> )	Jednotlivé skupiny - jikry (ks) (Jodisol: K = kontrola, V = vodovodní voda, R = rybníční voda)																			
			KV1	KV2	KV3	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	KR1	KR2	KR3	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
			0	0	0	1	2	5	10	20	50	100	0	0	0	1	2	5	10	20	50	100
23.3.	16	Výtěr Inkubace																				
24.3.	17	Nasazeno 1. koupel	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
25.3.	17	Odběr odumř. 2. koupel	2	1	3	3	3	2	1	5	2	16	3	1	4	4	1	2	3	1	3	14
26.3.	17,5	Odběr odumř. 3. koupel	2	2	2	4	2	0	2	3	2	4	3	2	4	2	2	4	1	0	2	6
27.3.	17,5	Odběr odumř. 4. koupel	4	3	4	6	6	7	3	4	3		1	4	4	3	4	5	5	2	3	
28.3.	17	Odběr odumř. 5. koupel	1	2	1	0	2	1	0	0	1		2	4	2	1	2	1	1	0	1	
29.3.	17	Odběr odumř.	1	2	2	0	1	0	1	0	1		0	2	1	0	1	1	0	1	0	
		Vylíhnuto (celkem)	7	7	9	6	4	7	7	6	9		7	6	4	9	9	6	7	7	6	
30.3.	17,5	Odběr odumř.	0	1	0	0	1	1	0	0	0		1	1	0	1	0	0	0	1	0	
		Vylíhnuto (celkem)	10	9	8	7	5	9	13	10	11		10	6	5	9	10	7	10	14	11	
<b>Líhivost (%)</b>			<b>50</b>	<b>45</b>	<b>40</b>	<b>35</b>	<b>25</b>	<b>45</b>	<b>65</b>	<b>50</b>	<b>55</b>	<b>0</b>	<b>50</b>	<b>30</b>	<b>25</b>	<b>45</b>	<b>50</b>	<b>35</b>	<b>50</b>	<b>70</b>	<b>55</b>	<b>0</b>

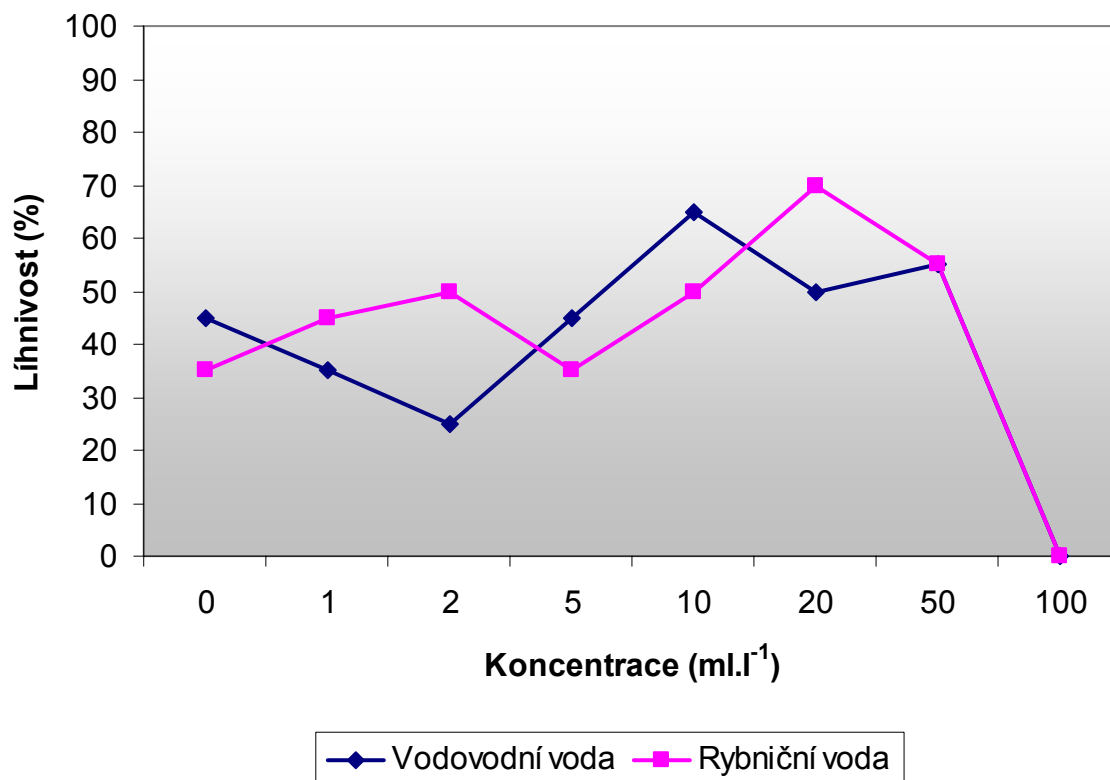
Tab. B4: Výsledky antimykotických koupelí jiker parmy obecné v roztoku Jodisolu (třetí opakování).



Obr. B1: Líhivost jiker parmy obecné ošetřovaných koupelemi v roztoku Jodisolu při inkubaci ve vodovodní a rybníční vodě (první opakování).



Obr. B2: Líhivost jiker parmy obecné ošetřovaných koupelemi v roztoku Jodisolu při inkubaci ve vodovodní a rybníční vodě (druhé opakování).



Obr. B3: Líhivost jiker parmy obecné ošetřovaných koupelemi v roztoku Jodisolu při inkubaci ve vodovodní a rybníční vodě (třetí opakování).



**PŘÍLOHA C - Obrázková dokumentace**



*Obr. C1: Průtočné gumotextilní nádrže.*



*Obr. C2: Průtočné laminátové žlaby.*



*Obr. C3: Anestézie v roztoku hřebíčkového oleje.*



*Obr. C4: Intramuskulární injekce hormonálního přípravku.*





*Obr. C5: Jikernačka parmy obecné těsně před výtěrem.*



*Obr. C6: Detail břišní partie jikernačky parmy obecné těsně po výtěru.*



*Obr. C7: Umělý výtěr jikernačky parmy obecné.*



*Obr. C8: Inseminace jiker parmy obecné.*





*Obr. C9: Inkubace jiker parmy obecné v Zugských lahvích.*



*Obr. C10: Detail oplozených (oranžových) a odumřelých (bílých) jiker.*



*Obr. C11: Vylíhnutý plůdek parmy obecné.*



*Obr. C12: Plůdek parmy obecné při pokusu zjišťování líhivosti.*



*Obr. C13: Experiment s antimykotickými koupelemi jiker parmy obecné.*