

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Ústav akvakultury

Bakalářská práce

**Vliv teploty vody na ontogenezi keříčkovce
jihoafrického (*Clarias gariepinus*) během
postembryonálního vývoje**

Autor: Pavel Franta

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

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

Studijní program a obor: B4103 Zootechnika, Rybnářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 3.

České Budějovice, 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci na téma Vliv teploty vody na ontogenezi keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) během postembryonálního vývoje jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedené v seznamu použité literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypouštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne.....Podpis

Poděkování

Je mou milou povinností poděkovat všem, kteří mi jakýmkoli způsobem pomohli s touto prací. Především bych chtěl poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce RNDr. Bořku Drozdovi, Ph.D. za trpělivost, cenné rady a připomínky při vypracování bakalářské práce. Dále děkuji svému konzultantovi prof. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. za pomoc a praktické rady během pokusu. Touto cestou bych také rád poděkoval Ing. Pavlu Šablaturovi za ochotu a pomoc při sestavování pokusného systému. V neposlední řadě patří můj dík mým přátelům a především mé rodině za podporu během studia.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavel FRANTA**
Osobní číslo: **V10B013P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Vliv teploty vody na ontogenezi keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) během postembryonálního vývoje**
Zadávající katedra: **Ústav akvakultury**

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

Objektem tématu navržené bakalářské práce je v současnosti jeden z hospodářsky nejvýznamnějších teplomilných druhů ryb chovaných jak v přirozených podmínkách, tak v podmínkách recirkulačních akvakulturních systémů (dále RAS), keříčkovce červenolemý (hospodářsky známý pod názvem sumec africký), *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Cílem navržené bakalářské práce je tak shrnutí dosud známých a rozšíření (experimentální cestou) informací z oblasti rané ontogeneze keříčkovce se zaměřením na problematiku existence tzv. *point of no return* ("bodu, odkud již není návratu"), tj. zásadního jevu popisovaného na rozhraní embryonální a larvální fáze (stádium eleuterembrya). Tento jev, který je často v provozních podmínkách RAS zcela podceňován, však tvoří klíčový problém při produkci kvalitního násadového materiálu ryb (při pozdním podávání startérových krmiv larvy hynou bez ohledu na kvalitu krmiva či krmnou dávku). Na tento obecný problém a významnost jevu jako celku, poukazuje ve své knižní monografii Kamler (1992), avšak exaktní, empirická data (např. v závislosti na teplotě či načasování začátku podávání první exogenní potravy) stále chybí. V teoretické části BP se student naučí pracovat s odbornou vědeckou literaturou (samostatné vyhledání a nastudování cizojazyčné literatury). Student se tak seznámí s daným druhem, problematikou studia reprodukce (přirozené i umělé) a ontogeneze u ryb jako celku a se zřetelem na cílový druh. Vypracuje tak zevrubnou literární rešerši na dané téma (tvořící základ bakalářské práce). Během vlastního experimentu, který bude probíhat v experimentálních podmínkách Ústavu Akvakultury v Českých Budějovicích, student ověří existenci jevu "point of no-return" u eleuterembryí a larev keříčkovce v závislosti na načasování začátku podávání první exogenní potravy (30 různých startů podání exogenní potravy, s intervalem 6 hodin, každý ve 3 opakování, kontrolní skupina: bez podání vnější potravy). Student tak zhodnotí tento jev v kombinaci biologických i ekonomických aspektů - přežívání během odchovu a kvality násadového materiálu (velikost larev, mokrá/suchá váha). Dosažené výsledky pak student následně vyhodnotí pomocí počítačového softwaru (Statistica, Image Analysis, MS Office) a srovná s výsledky a závěry z dostupné literatury.

Rozsah grafických prací: 10 - 20 tabulek a grafů

Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran textu

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Adamek, J. (2001). Sum afrikanski - Technologia chovu. Instytut Rybactwa Srodladowego, Olsztyn, 50 s.

Hamáčková, J., Kouřil, J., Masár, J., Turanský, R. 2007. Technologie chovu keříčkovce jihoafrického - sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). VÚRH JU Vodňany, Edice metodik (Technologická řada), č. 72, 22 s.

Haylor, G.S., Mollah, M.F.A. (1995). Controlled hatchery production of African catfish, *Clarias gariepinus*: the influence of temperature on early development. *Aquatic Living Resources*, 8: 431-438.

Kamler, E. (1992). Early life history of fish: An energetics approach. *Fish and Fisheries Series 4*, London: Chapman & Hall, 267 s.

Kamler, E. (2002). Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 12: 79-103.

Kamler, E. (2008). Resource allocation in yolk-feeding fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18: 143-200.

Kamler, E., Szlamińska, M., Kuczyński, M., Hamáčková, J., Kouřil, J., Dabrowski, R. (1994). Temperature-induced changes of early development and yolk utilization in the African catfish *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 44: 311-326.

Peňáz, M. (2001). A general framework of fish ontogeny: a review of the ongoing debate. *Folia Zoologica*, 50: 241-256.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Bořek Drozd, Ph.D.**
Ústav akvakultury

Konzultant bakalářské práce: **prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.**
Ústav akvakultury

Datum zadání bakalářské práce: **2. prosince 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2013**


prof. Ing. Otomár Lihhart, DrSc.
děkan

L.S.


Ing. Pavel Vejsada, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 3. února 2012

OBSAH

1. ÚVOD	9
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1 Keříčkovce jihoafrický	11
2.1.1 Systematiky druhu.....	11
2.1.2 Zeměpisné rozšíření	11
2.1.3 Popis druhu	11
2.1.4 Přirozená reprodukce.....	12
2.1.5 Umělá reprodukce	13
2.2 Ontogeneze ryb.....	14
2.2.1 Embryonální perioda.....	15
2.2.2 Larvální perioda	16
2.2.3 Juvenilní perioda.....	17
2.2.4 Adultní perioda	17
2.2.5 Senektivní perioda.....	17
2.3 Mezní úseky v ontogenezi keříčkovce jihoafrického	18
2.3.1 Inkubace jiker	18
2.3.2 Líhnutí eleuterembryí.....	18
2.3.3 Strávení žloutkového váčku.....	19
2.3.4 Přejít na exogenní potravu.....	19
2.3.4.1 Vývoj trávicího traktu.....	20
2.3.5 Point of no return (PNR)	20
2.4 Faktory ovlivňující ontogenezi ryb	21
2.4.1 Abiotické faktory	22
2.4.1.1 Teplota	22
2.4.1.2 Světlo	23
2.4.1.3 Obsah kyslíku	23
2.4.1.4 pH	23
2.4.1.5 Salinita	24
2.4.2 Biotické faktory	25
2.4.2.1 Maternální vliv	26
2.4.2.2 Vliv absence exogenní potravy během larvální periody.....	27
2.4.3 Spolupůsobení faktorů.....	28

2.5	Faktory ovlivňující ontogenezi keříčkovce jihoafrického	29
2.5.1	Teplota.....	29
2.5.2	Obsah rozpuštěného kyslíku	30
2.5.3	Vliv světla.....	30
2.5.4	pH.....	31
2.5.5	Kanibalismus	32
2.5.6	Hustota obsádky.....	33
3.	CÍL PRÁCE.....	34
4.	MATERIÁL A METODIKA.....	35
4.1	Reprodukce.....	35
4.1.1	Příprava generačních ryb na umělý výtěr	35
4.1.2	Výtěr.....	36
4.1.3	Inkubace jiker	36
4.2	Odchov.....	37
4.2.1	Nasazení	37
4.2.2	Odchovný systém.....	37
4.2.3	Zahájení pokusu a průběh.....	38
4.3	Odběr vzorků	39
4.3.1	Vzorek jiker	39
4.3.2	Vzorky pro stanovení morfometrických parametrů	39
4.3.3	Vzorek pro stanovení hmotnosti	39
4.4	Analýza dat.....	40
4.4.1	Stanovení plodnosti a hmotnosti jikry.....	40
4.4.2	Stanovení morfometrických parametrů	41
4.4.3	Stanovení velikostního rozložení	41
4.4.4	Stanovení hmotnosti.....	42
4.4.5	Stanovení přežívání.....	42
4.4.6	Stanovení míry kanibalismu	43
4.4.7	Analýza dat	43
5.	VÝSLEDKY	44
5.1	Plodnost	44
5.2	Časová determinace klíčových úseků ontogeneze	45

5.3	Sledované morfometrické ukazatele v klíčových bodech ontogeneze (H_{95} , S_{95} , Re_{95})	46
5.4	Gravimetrické ukazatele v klíčových bodech ontogeneze (H_{95} , S_{95} , Re_{95})	48
5.5	Vliv zahájení podávání vnější potravy na morfometrické parametry	49
5.6	Vliv zahájení podávání vnější potravy na velikostní strukturu (rozložení ve skupinách)	52
5.7	Vliv zahájení podávání vnější potravy na hmotnost	54
5.8	Vliv zahájení podávání vnější potravy na míru kanibalismu a přežívání	56
6.	DISKUZE	60
6.1	Plodnost	60
6.2	Vliv teploty na časový průběh rané ontogeneze	61
6.3	Průběh morfometrických a gravimetrických parametrů v klíčových úsecích rané ontogeneze.....	62
6.4	Vliv načasování zahájení podávání exogenní potravy	63
7.	ZÁVĚR	66
8.	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	67
9.	SEZNAM PŘÍLOH	73
10.	PŘÍLOHY	75
11.	ABSTRAKT	82
12.	ABSTRACT	84

1. ÚVOD

Význam keříčkovce jihoafrického *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) v akvakultuře má stále vzrůstající tendenci. Areál jeho přirozeného rozšíření zahrnuje téměř celý africký kontinent. Avšak v dnešní době je keříčkovec uměle chován i v mnoha zemích mimo tento kontinent. Hlavním důvodem, proč se jeho chov těší stále větší oblibě, jsou jeho vlastnosti, jako např. raná pohlavní zralost, rychlý růst a nízké nároky na prostředí. Právě tyto jmenované vlastnosti zvyšují jeho potenciál v akvakultuře, jejíž součástí se keříčkovec stal i v České republice.

Správné pochopení a osvojení si tohoto druhu jde pouze za předpokladu zvládnutí všech kritických vývojových úseků, které skýtá umělý odchov. Tato práce se zaměřila především na úskalí raného vývoje, během kterého jsou mladí jedinci keříčkovce velmi citliví vůči mnoha faktorům. Jeden ze zásadních determinujících faktorů umělého chovu keříčkovce představuje teplota, neboť se jedná o teplomilný druh. Z tohoto důvodu je intenzivní chov keříčkovce v klimatických podmínkách České republiky možný pouze v recirkulačních systémech o vyšší teplotě. To s sebou v praxi přináší vyšší náklady na chov, ale zároveň i zrychlení vývoje a současně celého cyklu odchovu, se zvyšující se teplotou v rámci teplotní valence druhu. Mnoho autorů se z výše uvedeného důvodu zaměřilo na výzkum vlivu teploty na rychlost ontogeneze keříčkovce jihoafrického. V této práci byl popsán nástup jednotlivých klíčových úseků v rané ontogenezi keříčkovce jihoafrického při teplotě 24 °C.

Jedním z rozhodujících úseků v ontogenezi je přechod larev na mixogenní výživu a s ním spjaté správné načasování zahájení krmení. Věk, ve kterém je larvám poprvé předkládána potrava, do značné míry ovlivňuje jak velikost jednotlivců, tak získanou biomasu a kvalitu násadového materiálu. Nejen opožděné předkládání potravy, ale i předčasné krmení, může významně ovlivnit správný vývoj larev. Proto, právě stanovení optimálního času zahájení krmení pro keříčkovce jihoafrického, bylo hlavní disciplínou tohoto výzkumu. S tím samozřejmě úzce souvisí determinace bodu PNR (*point of no return*) pro hodnocený druh. Tedy stanovení bodu, kdy významně klesá procento larev přijímajících exogenní potravu. Nevratné snížení příjmu potravy je však pouze projevem hladovění larev, které má dále za následek, buď vzrůst mortality, nebo snížení velikosti ryb. Tento fakt je důvodem, proč byla hodnocena i změna těchto parametrů a

výsledek sledování se stal jedním ze zásadních vodítek ke stanovení optimální doby zahájení krmení larev.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Keříčkovce jihoafrický

2.1.1 Systematiky druhu

Zkoumaný druh keříčkovce jihoafrický – *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) je jeden ze 107 druhů, které jsou zahrnuty do čeledi keříčkovcovití Claridae, náleží do řádu sumci Siluriformes a třídy paprskoploutví Actinopterygii (Hanel a Novák, 2004). Co se týče latinského názvu, vzhledem k širokému pásmu rozšíření, zde došlo k mnoha změnám a nesrovnalostem, které byly popsány zejména v kapitole rozšíření druhu. K mnoha změnám došlo i v českém názvosloví tohoto druhu. Původní název sumčík africký byl během času několikrát přeformulován, počínaje názvem sumček africký (Dubský a kol., 2003; Pokorný a kol., 2004), klarias africký (Kůrka a kol., 2000), keříčkovce červenolemý (Hanel, 1997), až po v současné době používaný název keříčkovce jihoafrický (Pokorný a kol., 2004).

2.1.2 Zeměpisné rozšíření

Keříčkovce jihoafrický byl poprvé popsán v Oranžské řece v Jižní Africe, kde byl znám jako “Gariep” (Jubb, 1967). Oblast výskytu keříčkovce zahrnuje celý africký kontinent, kde tvoří různé populace. Tyto populace vzhledem k plošnému výskytu na africkém kontinentu byly původně pojmenovány odlišnými latinskými názvy *Clarias mossambicus* – východní část, *Clarias lazerta* – severní a střední část, *Clarias senegalensis* – západní část a *Clarias gariepinus* – jižní část Afriky. Avšak rozšíření sahá až do asijských zemí k pobřeží Středozemního moře. Nejsevernější oblast výskytu je pak jižní Turecko (Viveen a kol., 1986).

2.1.3 Popis druhu

Typickým znakem keříčkovce jihoafrického je válcovité tělo se zploštělou hlavou, pokrytou silnými krycími kostmi. Oči jsou drobné, kolem úst je umístěno osm vousků, z nichž dva páry jsou na horní a dva na spodní čelisti. Pomocí těchto vousků keříčkovce na základě hmatových senzorů vyhledává potravu. Keříčkovce jimi může pohybovat nezávisle na pohybu čelistí. Počet žaberních tyčinek je velmi proměnlivý, od méně než 25 u malých jedinců, po více jak 70 tyčinek u vzrostlých jedinců. Nad žábami se

nachází dutina, v níž je umístěn stromečkovitě uspořádaný tzv. labyrintní aparát, který vznikl rozšířením prvního žaberního oblouku. Díky labyrintu je keříčkovec schopen využívat vzdušný kyslík. Dlouhá hřbetní a řitní ploutev s načervenalým lemem se táhne téměř k ocasní ploutvi. Ostatní ploutve jsou spíše drobné, navíc prsní jsou vybaveny poměrně silným prvním tvrdým paprskem. Tělo není pokryto šupinami, je tmavě šedé až olivové. Zbarvení se mění dle intenzity světla, ale také podle průhlednosti vody a typu říčního dna. Břišní partie je zbarvena bíle (Jubb, 1967; Dubský a kol., 2003; Hamáčková a kol., 2007).

Jedinci dorůstají maximální velikosti 120 – 150 cm a hmotnosti 15 – 25 kg. Pohlavní dospělosti dosahují už v raném věku 6 – 7 měsíců. Ve své domovině byl keříčkovec nucen se přizpůsobit obdobím sucha. Jedno z těchto přizpůsobení je již zmiňovaný labyrintní aparát a schopnost pasivního pohybu po souši pomocí prsních ploutví. Ovšem jsou i záznamy o schopnosti přečkat období sucha v bahně říčního koryta do příznivějších podmínek (Jubb, 1967; Dubský a kol., 2003). Jako potrava keříčkovci slouží široká škála organismů od bentických a planktonních organismů, až po menší ryby, které aktivně loví. V trávicím traktu keříčkovce byli jako potrava nalezeni i menší savci, žáby, hadi, nebo například semena a plody různých rostlin (Hecht a kol., 1988).

Uplatnění keříčkovce jihoafrického v akvakultuře stále stoupá, především díky rychlému růstu i ve vyšších obsádkách, schopnosti snášet kyslíkové deficity a horší kvalitu vody (Appelbaum a Kamler, 2000), jako je například vyšší obsah amoniaku a vysoký obsah organických látek ve vodě. V Evropě byl rozvoj keříčkovce v akvakultuře poprvé zaznamenán v Nizozemsku. Do tehdejšího Československa byl importován v roce 1989 z maďarských chovů (Dubský a kol., 2003; Pokorný a kol., 2004; Hamáčková a kol., 2007).

2.1.4 Přirozená reprodukce

Podnebí v Africe je rozděleno na období dešťů a sucha. V příznivějším období dešťů, kdy dojde k naplnění řek a jejich rozlití do zarostlých ramen a mělkých přítoků, táhnou dospělí jedinci keříčkovce jihoafrického právě do těchto míst a jim podobným za účelem tření. Při shromáždění generačních ryb na trdlištích dochází k bojům mezi samci. Samotnému tření, které probíhá většinou ve večerních hodinách, předchází námluvní rituál, při němž se samec oplétá kolem samice a stimuluje ji k uvolnění jiker.

Keříčkovci se vytírají na rostlinný substrát, na kterém ulpívají okolo 2 mm velké lepivé tmavě zelené jikry. Motilita spermií keříčkovce se pohybuje okolo 80 až 120 sekund. Jako stimulace ke tření působí teplota vyšší než 18 °C, obvykle však vyšší než 22 °C. Generační ryby se o jikry ani potomstvo zřejmě nestarají a vracejí se zpět do původních lokalit výskytu. Právě díky výtěru v mělkých a zarostlých úsecích mají vykulení jedinci větší šanci na úkryt a žijí zde do stáří několika měsíců. Na počátku období sucha se mladí jedinci vracejí zpět do dolních částí toku s dostatkem vody (Jubb, 1967; Hecht a kol., 1988; Dubský a kol., 2003; Hamáčková a kol., 2007)

2.1.5 Umělá reprodukce

V kontrolovaných podmínkách chovu lze docílit rozmnožování keříčkovce pouze s použitím hormonálních přípravků. Základem zdárného výtěru je dobrý generační materiál. Keříčkovce jihoafrický dosahuje pohlavní dospělosti velmi brzy a to ve věku 6 až 7 měsíců. K dosažení nejlepších výsledků při výtěru se ale doporučuje používat generační samice ve věku 2 – 3 let (Hamáčková a kol., 2007). Podobných závěrů dosáhli Adamek a kol. (2011), kteří upřednostňují samice staré 1 – 2 roky. Právě použití starších generačních samic přináší mnohá úskalí, jako je zvýšená míra kanibalismu, související s různou velikostí jedinců. Jako nejhorší variantu uvádí společný odchov potomků získaných jak od mladších, tak od starších samic (Adamek a kol., 2011).

Díky výraznému pohlavnímu dimorfizmu lze poměrně snadno určit pohlaví jedinců. Samci mají na rozdíl od samic prodlouženou pohlavní papilu, dalším výrazným znakem samic je zvětšená břišní partie v období rozmnožování (Hamáčková a kol., 2007).

Ze syntetických hormonálních přípravků bylo dosaženo poměrně dobrých výsledků při použití přípravků na bázi funkčních analogů GnRH a to Kobarelinu a Lecirelinu. Ovšem jako lepší varianta se ukázaly kombinované přípravky obsahující jak některý z analogů GnRH, tak inhibitor dopaminu. Z těchto přípravků je nejpoužívanější a poměrně dobře dostupný maďarský preparát Ovopel, skládající se z analogu savčí GnRH a inhibitoru Metoclopramidu. Dále je poměrně často používaným preparátem ve vědeckých studiích Ovaprim (Hamáčková a kol., 2007; Adamek a kol., 2011; Sharaf, 2012).

Syntetické hormonální přípravky jsou rybám podávány jednorázově injekčně a to intramuskulárně do svaloviny nebo intraperitoneálně do dutiny břišní. Analog GnRH

v dávce $10 - 40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, kombinovaný analog s pimozidem pak v dávce $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} + 8 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, nebo $40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} + 16 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Ovaprim v dávce $20 - 40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ a Ovopel v dávce jedna peleta na kilogram živé hmotnosti. Interval latence pro Ovopel je udáván 12 – 13 hodin při teplotě 24 – 25 °C (Hamáčková a kol., 2007; Sharaf, 2012).

Hamáčková a kol. (2007) pak uvádějí dosažení dobrých výsledků i s použitím kapří hypofýzy v dávce $2 - 3 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Hypofýza je rozpuštěna ve fyziologickém roztoku a je generačním rybám podávána injekčně.

Před injikací hormonu se generační ryby 1 – 2 dny nekrmí a po injikaci je u keříčkovce jihoafrického nutné držet samice jednotlivě v nádržích či boxech. Samce je možné držet pohromadě s nižší hladinou vodního sloupce. Před plánovanou ovulací se kontrolují samice každou hodinu, masáží břišní partie se zkouší připravenost k výtěru. V případě, že jsou nalezeny v nádrži volně vypuštěné jikry, je třeba k výtěru přejít ihned. Mlčí je získáváno z usmrcených samců preparací gonád (Hamáčková a kol., 2007).

Vytřené jikry je možné v případě komplikací uchovat, pokud nepřišly do kontaktu s vodou. Kouřil a kol. (2013) uvádějí možnost uchovat vytřené jikry až 6 hodin jen s mírným poklesem oplozenosti jiker, jsou-li jikry bez styku s vodou uchovávány v teplotách v rozmezí 15 – 20 °C. Pokud jikry bezprostředně po vytření přijdou do styku s vodou, je nutné je co nejdříve oplodnit z důvodů uzavření mikropyle. Již jednu minutu po styku s vodou se oplozenost a líhnivost jiker snižuje na polovinu. Po dvou minutách klesá líhnivost a po třech minutách oplozenost pod 10 % (Kouřil a kol., 2013).

2.2 Ontogeneze ryb

Ontogeneze je vývoj jedince daného druhu v čase, který je hierarchicky rozdělen do časových intervalů (periody, fáze, etapy a stádia). Nejdelším intervalem v ontogenezi je perioda. Jednotlivé periody jsou vymezeny kvalitativními změnami, jako je aktivace vajíčka, vykulení jedince, absorpce žloutkového vaku, přechod na exogenní potravu, nebo ukončení metamorfózy (Peňáz, 2000).

V rámci ontogeneze ryb je vývoj rozdělen do pěti period (Peňáz, 2000), které jsou od sebe odděleny mezními ontogenetickými body, i přesto zde existují různé teorie. Hlavní rozpory panují především mezi oddělením embryonální periody od larvální periody. Existují zde dva různé pohledy. První teorie považuje za počátek larvální periody vykulení jedince z vaječného obalu a je založena převážně na ekologických a

etologických aspektech, jako je přechod z vajíčka do nového prostředí, se kterým je jedinec v přímém kontaktu. Dalšími důvody je vzrůstající intenzita metabolických procesů, spotřeba kyslíku a prvotní aktivní pohyby. Teorie druhé koncepce je založena především na morfologických aspektech. Jako počátek larvální periody je považováno započetí příjmu exogenní potravy (Dubský a kol., 2003) a právě dle této teorie se budeme řídit i v této práci.

2.2.1 Embryonální perioda

Embryonální perioda začíná aktivací či oplozením vajíčka za vzniku zygoty. Po oplození ve vajíčku probíhají kvantitativní a kvalitativní změny. Nejprve se v zygote začíná rýhovat zárodečný terčik ležící na vrcholu žloutku. Rýhování u ryb probíhá diskoidiálně. Dělením terčiku se formuje nejdříve jedna vrstva buněk. Ve chvíli, kdy vrstva čítá šestnáct buněk, vzniká dělením vrstva druhá. Jakmile je na vrcholu žloutku velké množství kulovitých buněk (blastomér), je toto stádium označováno jako morula. Dalším stádiem je blastula, která vzniká ve chvíli, kdy je tzv. blastoderm oddělen od žloutku rýhovací dutinou tzv. blastocelem. Následuje stádium gastruly, při němž dochází k formování zárodečných listů. Ektoderm se utváří ze svrchní vrstvy a endoderm ze spodní vrstvy blastodermu. Dále vzniká po obvodu ztlustělý okrajový val, na jehož zadní části se formuje zárodečný uzel a před ním zárodečný proužek, od kterého se rozrůstá mezoderm. Ze vznikající tkáně se nejdříve začíná formovat chorda a nervová soustava (Lusk a kol., 1983; Dubský a kol., 2003; Gaisler a Zima, 2007).

Růst a vývoj jedince v této periodě je dotován pouze energií získanou transformací žloutkového vajíčka. Tím dochází ke snižování sušiny, ale zároveň ke zvyšování celkové hmotnosti zárodka, v důsledku zvyšujícího se obsahu vody v těle. Většina procesů je zabezpečována dočasnými orgány (Peňáz, 2000; Dubský a kol., 2003; Gaisler a Zima, 2007).

Ovšem trávicí trakt se už v této periodě začíná vyvíjet jako příprava na první příjem exogenní potravy. Yang a kol. (2010) uvádí, že k prvnímu rozlišení trávicího traktu u sumička kosatkovitého *Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson, 1846) na primární žaludek a střevo dochází dva dny po vykulení a ve stejný čas se začíná formovat slinivka a játra. Třetí den po vykulení dochází už k rozlišení střeva na přední a zadní oddíl. Objevují se chuťové pohárky, dochází k příjmu exogenní potravy a tím končí embryonální perioda.

Embryonální periodu po vykulení jedinců lze označovat za období, kdy jsou jedinci velmi citliví, mortalita dosahuje nejvyšší hladiny v celém ontogenetickém cyklu, ale odolnost jedinců postupně stoupá s jejich vývojem (Paňáz, 2000).

Vývoj v jikře je označován jako prenatalní a po vykulení embrya následuje vývoj postnatalní (Gaisler a Zima, 2007). Vylíhlý zárodek je v embryonální periodě označován jako tzv. eleuterembryo (Peňáz, 2000).

2.2.2 Larvální perioda

Tato perioda počíná zahájením příjmu exogenní potravy a končí ve chvíli, kdy všechny dočasné embryonální a larvální orgány vymizí, nebo jsou nahrazeny definitivními orgány. Také tělo nabývá proporčně shodných tvarů s dospělým jedincem. Trávicí ústrojí, formované již při ukončování embryonální periody, zahazuje funkci a energie potřebná pro aktivní pohyb a růst je získávána enzymatickou transformací vnější potravy. Dochází i k částečné resorpci zbylého žloutkového vaku. Délka resorpce žloutkového vaku se různí dle druhu ryby (Lusk a kol., 1983; Yang a kol., 2010). Také dochází k osifikaci kostních elementů a resorpci zbytků zárodečného ploutevního lemu (Lusk a kol., 1983). Charakteristickým znakem je velmi nízká schopnost larev hladovět (Paňáz, 2000).

Definitivní orgány přebírají v této periodě některé funkce (dýchací, trávicí). Na rozdíl od embryonální periody mírně klesá procento vody v těle a v důsledku narůstající syntézy vzrůstá obsah mastných kyselin, lipidů a kalorická hodnota. Délka periody je ovlivněna velikostí jikry, žloutkového vaku a dále i parentální péčí o potomstvo (Baruš a kol., 1995; Dubský a kol., 2003; Peňáz, 2000).

U většiny ryb trvá larvální perioda několik dnů, jsou však i výjimky, jako je úhoř říční *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758), u kterého trvá téměř 3 roky. To souvisí i s aspektem, že u některých mořských ryb je tato perioda delší a její konec je spjat s výraznými změnami. Přejít do juvenilní periody je tedy lépe definovatelný než u sladkovodních ryb, kde se jedná o proces pozvolný (Gaisler a Zima, 2007). Pro definování přechodu z larvální periody jsou důležitá především tato kritéria – zánik všech dočasných struktur a vznik všech definitivních orgánů. Jak už bylo řečeno výše, problémem je, že jak zánik starých dočasných struktur, tak vznik nových definitivních není synchronní (Dubský a kol., 2003).

Jedinci v této periodě jsou označováni jako larvy, ale nelze je přirovnávat k larvám jiných živočichů, jako jsou obojživelníci nebo bezlebeční (Gaisler a Zima, 2007).

2.2.3 Juvenilní perioda

Přechod do juvenilní periody probíhá přes metamorfózu, vyvinutím všech somatických struktur (šupinový pokryv, definitivní počet ploutevních paprsků), tvaru a zbarvení typického pro dospělé (Baruš a kol., 1995; Dubský a kol., 2003).

Během této periody končí morfologická diferenciacce a buněčná proliferace, nastupuje intenzivní růst celého organismu v důsledku růstu buněk a mezibuněčných prostor (Peňáz, 2000; Dubský a kol., 2003). Stále stoupá obsah lipidů, proteinů, glycidů a kalorická hodnota stejně jako odolnost organismu vůči prostředí. Naopak obsah minerálních látek klesá (Dubský a kol., 2003).

Juvenilní perioda končí ve chvíli započetí růstu prvovajíček a prvospermií, respektive ve chvíli, kdy gonády dosáhnou třetího stádia zralosti (zahájení tropoplazmatického růstu oocytů a spermiogeneze) (Dubský a kol., 2003; Pokorný a kol., 2004).

2.2.4 Adultní perioda

Adultní perioda začíná po dosažení třetího stupně zralosti gonád a končí projevením prvních známek stárnutí – snížení růstové aktivity a snížení aktivity nebo úplná ztráta schopnosti se rozmnožovat (Peňáz, 2000; Dubský a kol., 2003).

Adultní perioda je charakterizována schopností se rozmnožovat a je nejdelší periodou v ontogenezi ryb. Během této periody se mohou objevit i znaky typické pro dospělé jedince, například zbarvení nebo zvláštní projevy zbarvení. U některých druhů je také znám přechod na jinou potravu. U polycyklických druhů ryb se objevuje v důsledku rozmnožovací aktivity snížení intenzity růstu, především v prvním rozmnožovacím cyklu (Dubský a kol., 2003).

2.2.5 Senektivní perioda

Snížováním plodnosti a kvality pohlavních produktů nastupuje období stárnutí. To je dále doprovázené degenerací důležitých orgánů a útlumem jejich funkce. U monocyklických druhů ryb začíná tato perioda ihned po prvním výtěru a má velmi krátké trvání (Peňáz, 2000).

U polycyklických druhů je přechod většinou pozvolný a zahrnuje postupný pokles, až úplnou ztrátu pohlavní aktivity. Produkce gonád může být zajišťována asimilací zásobních látek nebo strukturních látek. Klesá schopnost syntézy proteinů a následně i lipidů. Růst ustává a jeho intenzita může nabývat i záporných hodnot (Dubský a kol., 2003).

2.3 Mezní úseky v ontogenezi keříčkovce jihoafrického

2.3.1 Inkubace jiker

Vytřené jikry keříčkovce jsou lepkavé a pokud jsou inkubovány v Zugských láhvích, musí se odlepkovat suspenzí jílu nebo lépe taninem v koncentraci $7 - 10 \text{ g} \cdot 10 \text{ l}^{-1}$ vody. V případě taninu se odlepkování provádí ve dvou po sobě jdoucích koupelích po dobu 20 sekund. Jikry se dále mohou inkubovat v akváriích nebo bazénech na sítěch nebo v Zugských láhvích, avšak ve všech případech musí docházet k jemnému promývání jiker proudící vodou. Eleuterembrya po vykulení jsou pak, buď ze sítě odsáty, nebo při použití hrubšího síta propadají dolů. Délka inkubace jiker je přímo úměrná teplotě vody (Hamáčková a kol., 2007).

2.3.2 Líhnutí eleuterembryí

Doba líhnutí eleuterembryí je přímo úměrná teplotě, při které jsou jikry inkubovány. Jako optimální teplota pro inkubaci jiker je udáváno rozmezí $25 - 27 \text{ }^\circ\text{C}$, při kterém se eleuterembrya začnou líhnout mezi 23 – 27 hodinami. Při $30 \text{ }^\circ\text{C}$ se doba inkubace zkracuje až na 20 hodin (Hamáčková a kol., 2007).

Oplozenost jiker není příliš vysoká, většinou se pohybuje mezi 50 – 60 %, je však nutné podotknout, že výjimkou nejsou ani hodnoty okolo 25 %. Ovšem líhivost těchto oplozených jiker je až 90 % (Hamáčková a kol., 2007; Kouřil a kol., 2013). I v tomto případě je klíčovým faktorem ovlivňujícím líhivost teplota. Podle Haylor a Mollah (1995) je líhivost 82 % při teplotě $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Při $35 \text{ }^\circ\text{C}$ už dochází k mírnému poklesu. Ovšem jako letální teplotu pro jikry uvádějí $15 \text{ }^\circ\text{C}$ (Haylor a Mollah, 1995).

Vykulená eleuterembrya disponují již otickou (sluchovou) kapsulí s otolity. K plné diferenciaci statoakustického ústrojí dochází u keříčkovce ve věku 144 hPF (z anglického – *hours post fertilization*) při teplotě $24 \text{ }^\circ\text{C}$, jak popisují Osman a kol. (2008). Při stejné teplotě uvádějí u keříčkovce ve věku 40 hPF patrné tlukoucí srdce, které se diferencuje na komoru a síň po dosažení stáří 72 hPF. K diferenciaci srdce na 4

oddíly - žilný splav (*sinus venosus*), předsíň (*atrium*), komoru (*ventriculus*) a srdeční násadec (*bulbus arteriosus*) dochází ve věku 144 hPF (Osman a kol., 2008).

2.3.3 Strávení žloutkového váčku

Strávení žloutkového váčku je v některých publikacích udáváno jako práh mezi embryonální a larvální periodou. Jde o kritický bod, po kterém plůdek musí vystačit pouze s energií, kterou získá enzymatickým rozkladem potravy přijaté z vnějšího prostředí (Peňáz, 2000).

Právě zkoumaný keříčkovce jihoafrický dokáže velmi efektivně využívat energii absorbovanou ze žloutkového váčku. Přibližně 92 – 94 % energie se rozdělí mezi dva hlavní komponenty – růst a metabolismus. Zbýlých několik procent se vstřebá při vykulení eleuterembrya (Kamler a kol., 1994).

Interval příjmu mixogenní výživy, kdy larvy využívají jak exogenní potravu, tak žloutkový váček, je velmi různý dle druhu. Například u keříčkovce dvoupásého *Heteropneustes fossilis* (Bloch, 1794), jenž je evolučně blízkým příbuzným keříčkovci jihoafrickému, Mookerji a Ramakrishna Rao (1999) popisují nerovnoměrný průběh absorpce žloutkového váčku. Při přechodu na exogenní potravu se postupně snižuje míra resorpce a tento interval se ještě dále prodlužuje u larev, které jsou v umělém chovu krmeny před strávením žloutkového váčku.

Prokešová (2012) uvádí délku periody od H_{50} do Re_{50} v rozmezí 52,79 – 163,29 hodin u nekrmených larev keříčkovce jihoafrického a prodloužení této periody na 178,40 – 379,27 hodin v případě podávání exogenní potravy během periody mixogenní výživy.

2.3.4 Přechod na exogenní potravu

Při přechodu na exogenní potravu, který je postupný, dochází k přeměnám ve stavbě těla vykulených eleuterembryí (Příloha č. 1 a 2). U keříčkovce jihoafrického byl přechod na exogenní potravu zaznamenán 28 hodin po vykulení při teplotě vody 20 °C a tento interval se zkracoval se stoupající teplotou. Na rozdíl od inkubace se tento interval zkracuje i při teplotě nad 30 °C bez negativních účinků. Při odchovu vykulených jedinců při konstantní teplotě 35 °C se přechod na exogenní potravu zkrátí až na 12 hodin (Haylor a Mollah, 1995). Přežívání keříčkovce od vykulení do přechodu

na exogenní potravu dosahuje až 75 %, při teplotách pohybujících se v rámci optima. Průměrně se však hodnoty přežívání pohybují okolo 50 % (Kouřil a kol., 2013).

Interval zahájení příjmu exogenní potravu je většinou značně protáhlý a to i v případě, kdy nebereme ohled na vnější podmínky. Je tedy otázkou, kdy v umělém chovu zahájit krmení larev. Ve většině vědeckých pracích v případě keříčkovce jihoafrického se autoři shodují na zahájení krmení 3 – 4 dny po vykulení při teplotě 27 °C. Načasování správného momentu je velmi důležité pro další vývoj a chov (Appelbaum a Kamler, 2000; Adamek a kol., 2011).

2.3.4.1 Vývoj trávicího traktu

Přechod larev na exogenní potravu je podmíněn vývojem trávicího traktu. Trávicí trak vykulených eleuterembryí keříčkovce jihoafrického se skládá z nediferencované rovné trubice s jednovrstevným cylindrickým epitelem. Ústa i řitní otvor jsou u eleuterembryí uzavřeny. Trávicí trubice se napojuje na žloutkový váček v jeho dorsální části. Během ontogeneze dále dochází k diferenciaci této trubice na ústní dutinu (s jednovrstevným dlaždicovým epitelem), jícen (s jednovrstevným cylindrickým epitelem) a střevo. Během ontogeneze se epitel jednotlivých oddílů trávicího traktu a samotný trávicí trakt dále transformují (Verreth a kol., 1992; Osman a kol., 2008).

I rychlost vývoje trávicího traktu se odvíjí od teploty vody. Osman a kol. (2008) uvádějí první diferenciaci trávicího traktu ve stáří 96 hPF při teplotě vody 24 °C, dále pak první známky budoucích jater a slinivky zaznamenali ve věku 72 hPF. Naopak Verreth a kol. (1992) pozorovali první diferenciaci trávicí trubice u keříčkovce jihoafrického ve stáří 48 hPF při teplotě 30 °C. Zpozorování prvních buněk jater a slinivky uvádějí už při vykulení eleuterembryí. Morfologicky kompletní zformování trávicího traktu při teplotě 30 °C popisují Verreth a kol. (1992) ve věku 8 dPF (z anglického – *days post fertilization*).

2.3.5 Point of no return (PNR)

Bod, z něhož není návratu (z anglického – *point of no return*, dále PNR), je definovaný jako tolerance larev k hladovění po strávení žloutkového váčku. Nastává ve chvíli, kdy dojde k tzv. „nevratnému hladovění“. Po „nevratném hladovění“ larvy umírají bez ohledu na následnou dostupnost potravu. PNR je stanoven jako moment, kdy 50 % do této chvíle nekrmených larev není schopno přijímat nyní předkládanou

potravu (Blaxter a Hampel, 1963; Mookerji a Ramakrishna Rao, 1999). Přesto v některých případech larvy i po PNR aktivně vyhledávají potravu, loví a může tedy dojít k zaplnění trávicího traktu potravou. Ta ale není dále vstřebávána a larvy postupně umírají hladem (Sirol a kol., 1998; Peña a Dumas, 2005). Tento jev způsobuje dlouhodobější nedostatky potravy, který má za následek postupné zhoršování vývoje trávicího traktu.

Období po nástupu PNR je doprovázeno zvýšenou mortalitou a rychlým poklesem počtu larev přijímajících potravu (Chai a kol., 2011). U některých druhů nebyl během experimentálního zjišťování PNR přesně zaznamenán. Sirol a kol. (1998) u trahira saopaulského (*Hoplias lacerdae*, Miranda-Ribeiro, 1908) z čeledi tetovití (Characidae), fázi PNR nezaznamenali. V chovu pozorovali pouze vysoký nárůst mortality.

Nástup PNR je do značné míry ovlivněn teplotou. Haylor a Mollah (1995) u keříčkovce jihoafrického zaznamenali PNR 7,5 – 8,5 dne od přechodu na exogenní potravu při teplotě 20 – 30 °C. Při teplotě 35 °C se interval zkrátil na pouhé 3,5 dne. Mookerji a Ramakrishna Rao (1999) u keříčkovce dvoupásého PNR zaznamenali 8 dní po vykulení při teplotě 26 °C.

2.4 Faktory ovlivňující ontogenezi ryb

Ryby jako organismy jsou interaktivním prvkem svého ekosystému, tyto dvě složky jsou tudíž navzájem ovlivňovány. Morfologické změny daného druhu jsou podmíněny adaptací na dynamiku environmentálních faktorů. Během evoluce tedy docházelo, dle prostředí u jednotlivých druhů, k různým specializacím a schopnosti se adaptovat. Rozmezí mezi extrémy, jenž druh snáší, nazýváme ekologickou valencí. Na základě ekologické valence se organismy dělí na stenovalentní s úzkou ekologickou valencí a euryvalentní s širokou ekologickou valencí (Laštůvka a kol., 2004; Gaisler a Zima, 2007). Každý druh svou ekologickou valencí na různé faktory (teplotu, světlo, proudění vody atd.), postavením v potravním řetězci a svým potravním spektrem a chováním má vytýčenou svou ekologickou niku. Během vývoje jednotlivých organismů často dochází ke změnám, například nárokům na prostředí, přijímanou potravu a postup v potravním řetězci (Dubský a kol., 2003; Gaisler a Zima, 2007). V rámci ontogeneze ryb tedy nelze říci, že kterýkoli z působících faktorů má stejný vliv na rybu během celého vývoje.

Tyto faktory jsou pak dle charakteru rozděleny na abiotické a biotické (Šlégl a kol., 2002).

2.4.1 Abiotické faktory

Abiotické faktory jsou faktory prostředí (daného ekosystému), které ovlivňují chování a vývoj organismu. Avšak k abiotickým faktorům nelze přičíst interakce mezi organismy. Do této kategorie v rámci vodních organismů lze zařadit hydrologický režim, sílu proudění, typ dna a fyzikálně chemické vlastnosti vody (Dubský a kol., 2003). Základní parametry fyzikálně chemických vlastností vody jsou jednotlivě popsány níže.

2.4.1.1 Teplota

Na základě ekologické valence na teplotu jsou organismy rozdělovány. Stenotermní, které snášejí pouze úzké rozpětí teplot a naopak eurytermní druhy, snášející široké rozpětí teplot. Ryby obývající mírné pásmo lze rozdělit na studenomilné (především lososovité ryby) a teplomilné (většina býložravých ryb) (Pokorný a kol., 2004; Šlégl a kol., 2005)

Především u ryb je vliv teploty výrazný, protože se jedná o poikiloterní (exoterní – studenokrevné) živočichy, jejichž aktivita a metabolismus jsou závislé na teplotě prostředí. Se stoupající teplotou se zkracuje rychlost vývoje ryb a s klesající teplotou se pak jednotlivé periody prodlužují. Vliv teploty a její využití na rychlost ontogeneze ryb lze samozřejmě aplikovat pouze v rámci teplotní valence druhu. Teploty mimo teplotní valenci druhu působí letálně, přičemž působením teplotního maxima v rámci teplotní valence může docházet k deformacím a abnormalitám jedinců (Kamler, 2002; Dubský a kol., 2003). Navíc Baruš a kol. (1995) uvádějí zvýšené procento abnormalit u vykuleného plůdku jak při vyšších teplotách, tak při nižších teplotách.

Avšak rozsah tolerovaných teplot pro druh není během ontogeneze stálý. Jedinci v embryonální periodě nejsou schopni akceptovat minima a maxima fyziologického rozmezí dospělce. Teplotní valence tedy během ontogeneze stoupá, alespoň od vykulení eleuterembrií (Peňáz, 2000; Kamler, 2002).

Odlišné valence na teplotu v rámci druhu může být dosaženo i cíleným šlechtěním. Například Pokorný a kol. (2004) uvádějí vyšší odolnost šupinatého kapra na nižší teplotu než lysce a to nejen u raných stádií, ale i u starších jedinců. V tomto případě je samozřejmě snížení teplotní valence sekundární efekt.

2.4.1.2 Světlo

Dle náročnosti lze druhy rozdělit na nenáročné na světlo – euryfotní a druhy vyhledávající oblasti s určitou intenzitou světla – stenofotní. Ovšem častější dělení je na světломilné (fotofilní) a stínomilné (fotofóbní). Během ontogeneze se musí přizpůsobovat podmínky odchovu dle světelných nároků daného vývojového stadia a druhu. Samotná intenzita světla může přímo ovlivňovat líhivost jiker (Pokorný a kol., 2004).

Po vykulení se u ryb projevuje vrozené chování na světlo. U litofilních a ostrakofilních druhů se reakce na světlo projevuje většinou negativně a je doprovázena tzv. tigmoreflexem, tj. aktivním vyhledáváním úkrytů. Avšak u většiny ryb se po přechodu na vnější potravu mění reakce na fotofilní. Naopak u ryb fytofilních a pelagofilních byl pozorován opačný průběh. Vztah ke světlu se v průběhu ontogeneze může měnit vícekrát, například i s přechodem na jiný druh potravy (Baruš a kol., 1995).

Při odchovu raných stádií ryb v poloprovozních a provozních podmínkách může mít světlo i sekundární vliv na přežití a růst – u fotofobických larev a především u dravých druhů. Sekundární vliv spočívá především ve stoupající míře kanibalismu, snížené míře využití potravy a nižším růstu (Appelbaum a Kamler, 2000; Adewolu a kol., 2008).

2.4.1.3 Obsah kyslíku

Kyslík je klíčový pro správný vývoj jedinců (Pokorný a kol., 2004). Především v embryonální periodě jsou nároky na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě vysoké a dosahují maxima během celého ontogenetického cyklu. Pokud není zajištěn v této periodě dostatek kyslíku ve vodě, může dojít ke zpomalení embryonálního vývoje. S postupným přechodem do larvální a juvenilní periody se tyto nároky snižují a stoupá odolnost jedinců vůči obsahu kyslíku ve vodě. U některých druhů se pak během ontogeneze vyvíjí různé doplňkové či náhradní dočasné i permanentní dýchací orgány (Kamler, 1992; Conceição a kol., 1998; Dubský a kol., 2003).

2.4.1.4 pH

Pro většinu u nás žijících sladkovodních ryb se jako optimální hodnota pH, neboli koncentrace vodíkových iontů, udává rozmezí 6,5 – 8. Samozřejmě některé ryby, především lososovité, snášejí i hodnoty kolem 4 (Pokorný a kol., 2004).

Vliv pH na ranou ontogenezi ryb, jako abiotického faktoru, není dostatečně znám, především ve srovnání s abiotickými faktory jako je teplo nebo světlo. Přesto, stejně jako u teploty, by se hodnoty pH při odchovu měly udržovat v daném optimu. Pokud tomu tak není a hodnoty výrazně klesají, nebo stoupají, dochází k prodlužování inkubační doby jiker v důsledku inhibice embryonální aktivity a aktivity chorionu (Kamler, 2002). Stibranyiová a kol. (1996) se zabývali vlivem pH na larvální vývoj kapra obecného *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). Výsledkem bylo mírné zpomalení ontogeneze, zvýšený výskyt anomálií a chorobných stavů při pH mimo optimum druhu. Při pH 9,5 byla jako negativní vliv zaznamenána retardace v růstu u larev kapra obecného (Stibranyiová a kol., 1996).

2.4.1.5 Salinita

Salinita do značné míry ovlivňuje rovnováhu solí a iontů ve vodě a množství kyslíku, které sladkovodní ryby spotřebují. V rámci ontogeneze mají embrya ryb širší toleranci k salinitě než stádium larvy, které hyne při nižší salinitě (Baruš a kol., 1995). Vetemaa a Saat (1996) uvádějí, že salinita neměla v rámci zkoumaného druhu ježdíka obecného *Gymnocephalus cernuus* (Linnaeus, 1758) vliv na délku embryonální periody. Ale prokázali, že se zvyšující salinitou se prodlužuje interval kulení. Pokud jsou hodnoty salinity vyšší než optimum druhu, dochází u eleuterembryí k abnormalitám (zdeformovaný nebo zkrácený ocasní násadec) a snížení frekvence srdeční činnosti (Vetemaa a Saat, 1996).

Avšak Fridman a kol. (2012) uvádějí u tlamouna nilského *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) prodlužující se embryonální periodu v závislosti na stoupající salinitě. Také udávají sníženou absorpci žloutkového vřáčku do H_{100} , tedy s tím související vyšší hmotnost eleuterembryí vystavených salinitě. Salinita má také vliv na spotřebu kyslíku, která byla u larev tilápie vystavených salinitě ve věku 3 – 6 DAH (z anglického – *days after hatching*) nižší, ale po dovršení stáří 9 DAH popisují naopak zvýšení spotřeby kyslíku (Fridman a kol., 2012).

Optimální salinita pro chov keříčkovce jihoafrického se phybuje v rozmezí 0 až 2,5 ppt, ale je schopen krátkodobě přežít i hodnoty 12 ppt (Hecht a kol., 1988).

2.4.2 Biotické faktory

Biotické vlivy zahrnují především interakce mezi organismy a to chování v populaci daného druhu, ale i mezidruhové chování a samotné chování jedince. Chování ryb má dvě složky. Vrozená, tj. stereotypní složka (reflexy, instinkty), pro každý druh charakteristická a geneticky daná. Druhá složka, získaná (adaptivní), se formuje během ontogeneze tzv. „učením“. Jedná se tedy o určitý typ adaptace, například přizpůsobení pro efektivnější získávání potravy (Baruš a kol., 1995).

Vnitrodruhové vztahy v rané ontogenezi mohou být v umělých chovech ovlivněny již výběrem generačních ryb a následným zvýhodněním některých jedinců při vývoji (Adamek a kol., 2011). Za další biotický vliv především v umělých chovech se považuje množství chovaných jedinců v daném prostředí neboli hustota obsádky. Vysoká obsádka však může vést k různým výsledkům, které se odvíjí od přirozeného chování daného druhu v přírodě. Například u ryb žijících v hejnech je vyšší počet jedinců jistou adaptací na predátora. Naopak u většiny dravých druhů, kteří žijí teritoriálně, může docházet ve vyšších obsádkách při odchovu ke snížení intenzity růstu, případně ke kanibalismu (Baruš a kol., 1995; Hossain a kol., 1998).

V umělém chovu jsou interakce mezi druhy do značné míry ovlivněny prostředím, tedy například chovnou nádrží. Vznikají tak interakce, které se v přirozeném prostředí běžně nevyskytují. Samotným výsledkem interakcí bývá vždy boj o přežití, který začíná již na začátku ontogeneze. Interakce mezi organismy vznikají na základě alespoň částečného překrývání jejich ekologických nik (Odum, 1977).

Jako záporné interakce se uvádějí predace a parazitismus, kdy jeden druh negativně ovlivňuje růst a přežívání druhého druhu (kořisti, hostitele) (Odum, 1977). U ryb vyskytujících se v České republice v podstatě nelze najít potravní specialisty. Důvodem je stejnorodost přijímané potravy těchto ryb během rané ontogeneze, kdy většina z nich přijímá nebo má schopnost přijímat jako potravu zooplankton. K přechodu na typickou potravu daného druhu dochází až po dosažení daného věku nebo velikosti (Adamek kol., 2010). Ovšem kořist a predátor se během koevoluce navzájem přizpůsobují. I z tohoto důvodu může být tato záporná interakce i pro kořist prospěšná (např. selekce slabých jedinců). Nehledě na nepřímý vliv na ostatní druhy, kdy se efekt predace přenáší dolů po potravním řetězci – tzv. predační kaskáda (Odum, 1977; Stoch a Mihulka, 2000).

Pokud hovoříme o parazitizmu u ryb, jedná se o poměrně vzácnou interakci (Baruš a kol., 1995) a je častější v oblastech tropů, kde je diverzita ryb vyšší. Naopak vztah, kdy je ryba napadena parazitem a v potravním řetězci tak zaujímá místo hostitele, je mnohem častější, ať už hovoříme o parazitech nebo virových a bakteriálních onemocněních.

Došlo-li během evoluce u dvou druhů ke vzniku podobných nároků na prostor a potravu, projevem jejich interakce je konkurence. V takovém případě je vyloučen jeden z druhů z dané lokality. Ale celkové vyhynutí druhu v důsledku konkurence je velmi nepravděpodobné, protože na základě Gauseho pravidla nemohou mít dva druhy totožnou ekologickou niku (Odum, 1977). V rámci konkurence je vždy v boji o potravní zdroje nebo prostor jeden druh svou ekologickou nikou (v daném ekosystému) ve výhodě (Stroch a Mihulka, 2000). Stroch a Mihulka (2000) dále uvádějí, že během koevoluce dochází k přechodu z konkurence na neutralismus, tedy oddělení nik dvou druhů.

Obecně lze říci, že nově vznikající vztahy mezi organismy jsou většinou záporné. Avšak právě během koevoluce se tyto interakce mění na kladné. Například vzniku symbiózy, tedy kladné interakce, většinou předchází právě parazitizmus (Odum, 1977; Stroch a Mihulka, 2000).

2.4.2.1 Maternální vliv

Maternální vliv je vliv generačních samic na jejich potomky. Jedná se o zvýhodnění některých potomků v důsledku kondice, velikosti nebo věku generačních samic. Nejčastěji zmiňovanou problematikou je vliv velikosti jiker na průběh rané ontogeneze. Jeuthe a kol. (2013) uvádějí vzestup velikosti jiker a jejich líhivosti se stoupajícím věkem generačních samic, zároveň poukazují na tento růst pouze do určitého věku. Tento fakt koresponduje s prvními projevy selektivní periody (Peňáz, 2000).

Ovšem i ryby stejné věkové kategorie se mohou lišit suchou váhou produkovaných jiker. Ojanguren a kol. (1996) popisují závislost suché váhy jiker na hmotnosti i délce generačních samic stejné věkové kategorie pstruha obecného (*Salmo trutta*, Linnaeus, 1758). Potvrdili tak, že ryby stejné populace a věku produkují různě velké jikry a tyto rozdíly ve velikosti jiker mají za následek vyšší varianci ve velikosti plůdku. Velikost generačních samic tak do značné míry ovlivňuje velikost juvenilních jedinců a tedy i dobu dosažení daného ontogenetického stádia (Ojanguren a kol., 1996). Podobných

výsledků dosáhli Kennedy a kol. (2007) uvádějící u platýsa velkého (*Pleuronectes platessa*, Linnaeus, 1758), že velikost jiker stoupá především se vzrůstající hmotností generačních samic, než jejich délkou. Naopak neprokázali vliv velikosti jiker jak na přežívání, tak na líhivost jiker.

Důležitým faktorem je především zvýhodnění eleuterembryí vykulených z větších jiker, která disponují větším objemem žloutkového vřáčku. Taková eleuterembrya mají během raného vývoje vyšší míru růstu (Ojanguren a kol., 1996). Díky tomu může u některých druhů ryb docházet k vyšší míře kanibalismu (viz kapitola 2.5.5 Kaniabalismus). Velikost jiker také ovlivňuje nástup PNR (*point of no return*). Rana (1985) uvádí nástup PNR u larev vykulených z malých a středně velkých jiker tlamouna mosambického *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) ve věku 15 – 16 DAH a prodloužení nástupu tohoto bodu do stáří 21 DAH u larev vykulených z velkých jiker. Zajímavým faktem je, že doba zahájení příjmu exogenní potravy naopak velikostí jiker nebyla ovlivněna (Rana, 1985).

2.4.2.2 Vliv absence exogenní potravy během larvální periody

Potravní nabídka je důležitým faktorem, který může do značné míry ovlivnit chování, růst a především přežívání ryb. Dostatečná nabídka potravy je nezbytná především během rané ontogeneze. Absence potravy v tomto období může vést až k nevratným změnám nebo dokonce úhynu jedince v důsledku hladovění, hlavně po nástupu PNR (viz kapitola 2.3.5 Point of no return (PNR)).

Nedostatek potravy se nejvíce projevuje na hodnotách morfometrických a gravimetrických údajů. Hladovějící larvy mají menší celkovou délku těla a hmotnost. Dokonce v rámci celkové délky těla může docházet k jejímu zmenšování (Peña a Dumas, 2005; Xiong a kol., 2006; Zhang a kol., 2009). I objem žloutkového vřáčku je vyšší u larev s dostatečnou potravní nabídkou, protože hladovějící larvy využívají pouze žloutkový vřáček. Zajímavé je, že autoři předešlého tvrzení Zhang a kol. (2009) uvádějí u druhu *Siniperca scherzeri* Steindachner, 1892 strávení žloutkového vřáčku ve stejný čas jak u hladovějících, tak u krmených larev.

Dále se vliv hladovění projevuje snížením velikosti oka, výšky svaloviny a výšky hlavy larev (Xiong a kol., 2006; Zhang a kol., 2009). Jako ukazatele míry hladovění se také osvědčily poměry mezi délkou těla (SL) a těmito morfometrickými parametry –

délka hlavy, výška těla, délka oka, délka trupu (Gisbert a kol., 2004; Peña a Dumas, 2005).

Absence potravy po zahájení příjmu exogenní potravy se nezbytně promítá i v ontogenetickém vývoji. Dochází k zastavení pigmentace, vývoje struny hřbetní (*notochorda*), diferenciaci orgánů a ploutví (Xiong a kol., 2006). Z histologických změn se hovoří o atrofii vláken kosterního svalstva, deformaci struny hřbetní a zmenšení plynového měchýře. Konkávní tvar otické kapsule a změna ve struktuře primárních jater a slinivky byly také popsány jako projev hladovění larev (Gisbert a kol., 2004; Peña a Dumas, 2005; Xiong a kol., 2006; Shan a kol., 2008).

Následkem absence potravy dochází i ke změnám chování, například snížení aktivity, schopnosti reagovat na vnější podněty a ztrátě schopnosti udržet rovnováhu. S prodlužujícím se intervalem hladovění také klesá schopnost larev ulovit živou potravu (Mookerji a Ramakrishna Rao, 1999; Gisbert a kol., 2004; Xiong a kol., 2006).

2.4.3 Spolupůsobení faktorů

Teoreticky lze hovořit o působení jednotlivých faktorů, ať už ze skupiny biotických, nebo abiotických faktorů. Avšak v praxi nikdy na ontogenezi nepůsobí pouze jeden jediný faktor, ale jedná se o soubor vlivů, které organismus ovlivňují, či formují. Samozřejmě vztah prostředí a organismu působí i opačným způsobem. Samotný druh může do jisté míry ovlivňovat prostředí. Například schopnost některých organismů vylučovat chemické látky jako vedlejší produkt (Odum, 1977; Dubský a kol., 2003; Šlégl a kol., 2005).

Dobře patrné může být spolupůsobení faktorů v umělém chovu. Především chov ve vyšší obsádce způsobuje stoupající množství metabolitů a klesající obsah kyslíku. Přestože některé druhy v těchto nepříznivých podmínkách dokážou žít, v případě výskytu patogenu mohou být na jeho infekci náchylnější. I zvýšení stresu v důsledku vyšší obsádky může snižovat přirozenou obranyschopnost ryb vůči patogenům. Navíc přenos onemocnění ve vyšších obsádkách je velmi rychlý (Hecht a kol., 1988).

Hossain a kol. (1998) ve své práci hodnotili spolupůsobení hustoty obsádky, světla a nabídky úkrytů u larev keříčkovce jihoafrického (viz kapitola 2.5.6 Hustota obsádky).

2.5 Faktory ovlivňující ontogenezi keříčkovce jihoafrického

Keříčkovce jihoafrický je perspektivní rybou pro chov v intenzivní akvakultuře. Avšak odchov keříčkovce především v raném vývoji je spjat s řadou aspektů, které mohou do značné míry ovlivnit úspěšnost odchovu. Z toho důvodu je důležité si tyto aspekty vymezit a předejít jejich negativnímu působení.

2.5.1 Teplota

Teplota je hlavní abiotický faktor ovlivňující ontogenezi. Pokud jsou jikry keříčkovce inkubovány v teplotě 15 °C, dochází k jejich úhynu během 62 hodin (Haylor a Mollah, 1995). Avšak Prokešová (2012) uvádí jako letální, pro embryonální periodu (Fe – H₅₀), teplotu pod 17,5 °C a nad 35,5 °C. Se stoupající teplotou klesá doba inkubace a stoupá procento vykulených eleuterembryí s vrcholem při 30 °C, při 35 °C již mírně toto procento klesá (Haylor a Mollah, 1995). Se zvyšující se teplotou během embryogeneze keříčkovce se také zkracuje interval kulení jiker, zároveň dochází ke snížení velikosti eleuterembryí a z toho vyplývajícího zpomalení vývoje (Kouřil a kol., 2013).

I přes nejvyšší procento vykulených jedinců při teplotě 30 °C je jako optimální rozmezí teplot pro inkubaci a ranou ontogenezi udáváno 23 – 30 °C (Prokešová, 2012). V některých zdrojích je uváděno jako optimum pro inkubaci 25 – 27 °C (Hamáčková a kol., 2007), toho je využíváno především v intenzivních chovech, kde jsou důležitým aspektem i energetické náklady při odchovu.

S teplotou se také zkracuje přechod na exogenní potravu. Při teplotě 20 °C a 25 °C trvá přechod 28 a 24 hodin, ale při teplotě 30 °C až 35 °C trvá přechod méně než 12 hodin od vykulení (Haylor a Mollah, 1995). Během larvální periody klesá teplotní tolerance keříčkovce jihoafrického. Oproti embryonální periodě jsou pro larvální periodu jako letální uváděny teploty pod 19 °C a nad 33 °C (Prokešová, 2012).

Vliv teploty na délku periody od oplození jiker do vykulení, zahájení příjmu exogenní potravy a strávení žloutkového váčku, je zobrazen v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Vliv teploty na nástup jednotlivých mezních úseků v ontogenezi keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) (podle Haylora a Mollaha, 1995)

Teplota °C	Doba od oplození ve dnech								
	20	22	24	26	28	30	32	34	35
Vykulení	2,36	1,73	1,37	1,13	0,96	0,84	0,74	0,67	0,63
Započetí příjmu exogenní potravy	4,78	3,51	2,77	2,29	1,95	1,70	1,50	1,35	1,28
Strávení žloutkového váčku	6,49	4,76	3,76	3,10	2,64	2,30	2,04	1,83	1,74

2.5.2 Obsah rozpuštěného kyslíku

I když je keříčkovec díky labyrintnímu orgánu poměrně odolný vůči kyslíkovým deficitům, je nutné během raného vývoje udržovat dostatečné nasycení kyslíkem a to během období, kdy není vlastní labyrintní orgán ještě vytvořen. To je zhruba 3 – 4 týdny po vykulení (Hamáčková a kol., 2007).

Míra spotřeby kyslíku u keříčkovce ve fázi neoplozené jikry je poměrně nízká 0,0298 a 0,0508 mm³ na jikru, respektive při teplotě 25 a 28 °C. Při zvyšující se teplotě stoupá i spotřeba kyslíku. Při kulení eleuterembryí spotřeba kyslíku stoupá a je na nejvyšší úrovni v rámci celého vývoje. Tento vzestup spotřeby kyslíku je spjat s narůstající aktivitou a vytvářením nových tkání a především s často ještě plně nevyvinutým žaberním aparátem. Jak se však jedinci vyvíjejí a absorbují žloutkový váček, spotřeba kyslíku klesá (Kamler a kol., 1994; Conceição a kol., 1998).

Zejména v chovech, kde zvolíme chov v zastíněných systémech, dochází ke snížení obsahu kyslíku. Zde je zapotřebí tento aspekt sledovat a v případě nízkého obsahu kyslíku přejít na aeraci nebo provzdušňování (Adewolu a kol., 2008).

2.5.3 Vliv světla

Intenzita a délka světelného režimu má významný vliv na ontogenezi v embryonální a larvální periodě. Pro odchov keříčkovce je doporučen chov ve tmě a to především při přechodu z endogenní potravy na exogenní potravu. Z tohoto důvodu je doporučováno odchovnou nádrž zakrýt před zahájením exogenní potravy (Hamáčková a kol., 2007).

Zastíněním lze docílit snížení mortality. Přežívání u larev chovaných ve tmě je o 22 % vyšší než u larev vystaveným přímému světlu. Ovšem larvy, chované na světle při započetí příjmu potravy a následně chované ve tmě po strávení žloutkového váčku, mají stále ještě vyšší přežívání, než larvy chované nejdříve ve tmě a poté na světle. Z toho

plyne, že hlavní vliv světla na přežívání by byl až po strávení žloutkového váčku (Appelbaum a Kamler, 2000).

Světelný režim během odchovu silně ovlivňuje velikostní parametry (velikost a hmotnost) chovaného plůdku. Plůdek chovaný ve tmě lépe přijímá potravu, je klidnější a díky tomu může většinu přijaté energie vložit do růstu. Ryby chované na světle jsou stále aktivní a získanou energii investují do pohybu. Tak dochází i k častějším střetům mezi jedinci a nepřímo se tak zvyšuje i míra kanibalismu (Appelbaum a Kamler, 2000; Adewolu a kol., 2008).

Nejen zakrytí odchovných nádrží, ale i pouhé nabídnutí dostatku úkrytů larvám, snižuje mortalitu a zvyšuje konečnou biomasu odchovávaných ryb a to dokonce s vyšším účinkem než samotné zakrytí nádrže. Kombinací obou opatření pak lze dosáhnout nejlepších výsledků (Hossain a kol., 1998).

V rámci vlivu světla je nutné zmínit vliv UVA záření na ontogenezi ryb. Mahmoud a kol., (2009) se zabývali vlivem UVA záření při vlnové délce 366 nm na embryogenezi keříčkovce jihoafrického. Výsledkem bylo prodloužení doby kulení a zvýšení mortality embryí, tyto parametry byly pozitivně korelovány s prodlužující se expozicí UVA záření. U embryí vystavených UVA záření také dochází k morfologickým malformacím (edém žloutkového váčku, nanismus, lordóza a kyfóza) a histologickým změnám (Mahmoud a kol., 2009).

2.5.4 pH

Optimální pH pro keříčkovce jihoafrického je 6,5 – 8,0, jako letální jsou uváděny hodnoty pod 4 a nad 11 pH (Hamáčková kol., 2007). Optimální pH pro embryonální a larvální periodu se nachází mezi 7,5 až 8,5, inkubační doba v tomto rozmezí je 17 hodin. V pH 4,5 a 9,5 se inkubační doba prodlužuje na 20 hodin (Nchedo a Chijioke, 2012). Nchedo a Chijioke (2012) dále popisují nejvyšší líhivost v pH 8 a jako letální pH pro kulení eleuterembryí keříčkovce jihoafrického uvádějí pH 4 a 10. Avšak 100 % jedinců chovaných v pH nižším než 5 a vyšším než 9,5 uhyne do strávení žloutkového váčku. Nejnižší mortalitu do strávení žloutkového váčku uvádějí v pH 8,5.

Alkalické prostředí má také vliv na exkreci amoniaku a močoviny. Saha a kol. (2002) se věnovali této problematice u keříčkovce žabího *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758), při pH 10 uvádějí pokles exkrece amoniaku o 75 % během 6 hodin a jeho akumulaci v plazmě a tělních tkáních kromě mozkové. Po 6 hodinách uvádějí vzrůst a

stabilizaci exkrece amoniaku na 50 %. V alkalickém pH také dochází k akumulaci močoviny opět v plazmě a tkáních (Saha a kol., 2002). Vzhledem k příbuznosti druhů lze předpokládat podobný průběh i u keříčkovce jihoafrického.

2.5.5 Kanibalismus

Kanibalismus je definován jako situace, kdy jedinec využívá jako potravu příslušníky vlastního druhu. U některých druhů ryb může jít o přirozené chování, v jiných případech může být kanibalismus způsoben různými faktory, jako je například nesprávná aplikace krmiva, nedostatek úkrytů, nevhodný teplotní a světelný režim (Pokorný a kol., 2004).

Kanibalismus lze rozdělit na intrakohortní kanibalismus, který probíhá mezi rybami stejné věkové skupiny a interkohortní kanibalismus, probíhající naopak mezi různými věkovými kategoriemi (Folkvord, 1997).

Jedná se o kritický bod při odchovu plůdku, který je spojený s vyšší mortalitou. Tento jev může být ovlivněn již při samotném výběru generačních ryb, kdy při výběru různě velkých či starých ryb dochází k získání různě velkých jiker, tedy vyšší variabilitě ve velikosti a objemu žloutkového vajíčka vykulených eleuterembryí. Adamek a kol. (2011) uvádějí, že u larev získaných od jedné samice keříčkovce jihoafrického činila váhová odchylka 30 – 33 %. Naopak u larev získaných od dvou rozdílně starých samic lišících se ve váze o 3 kg, byla váhová odchylka larev 48 – 79 %. Tato odchylka měla za následek sníženou konečnou biomasu odchovaných jedinců díky zvýšené míře mortality a kanibalismu. Se snižujícím se rozdílem hmotnosti mezi generačními samicemi se snižovala i míra kanibalismu. Za optimální hmotnost generačních samic pro výtěr Adamek a kol. (2011) uvádějí rozmezí 2 – 3 kg.

Kanibalismu se lze dále vyvarovat zatemněním odchovných nádrží, kdy jsou larvy klidnější a nedochází k jejich častému střetávání. I způsob krmení může do jisté míry snížit míru kanibalismu. Především je vhodné podávat krmení častěji a v menších dávkách (Hamáčková a kol., 2007).

Hecht a Appelbaum (1988) uvádějí jako základní aspekt kanibalismu šířku ústního otvoru predátora a šířku hlavy kořisti. Na základě poměru těchto velikostí pak rozdělili kanibalismus na dva typy postupující během ontogeneze:

1. Kanibalismus objevující se od velikosti 8 – 45 mm. Larvy se napadají mezi sebou, přestože mezi nimi nejsou patrné výrazné velikostní rozdíly. Pod úhlem 45° loví svou kořist, kterou pokládají za potravu. Tyto útoky jsou vedeny na ocasní násadec larev. Tento typ kanibalismu se projevuje v raném vývoji larev. Larvy proto nejsou dostatečně velké, aby dokázaly kořist posunout do jícnu a strávit. Tento typ kanibalismu se označuje za kanibalismus I. typu. Známkou probíhajícího kanibalismu I. typu jsou uhynulí jedinci s chybějícím ocasním násadcem.

2. Kanibalismus II. typu probíhá později, ve fázi kdy je velikostní variabilita mezi jedinci vyšší. Rozdíl mezi šířkou ústního otvoru predátora a šířkou hlavy kořisti je tak větší. Kanibalističtí jedinci dokážou tak ulovenou kořist strávit. V důsledku toho je jediným projevem kanibalismu II. typu úbytek menších jedinců z populace.

U keříčkovce jihoafrického byl kanibalismus při raném odchovu poprvé zaznamenán 8 dní po oplození jiker při průměrné velikosti larev 11 mm. Větší jedinci útočili na menší, ti pak nesli známky kanibalismu I. typu (Appelbaum a Kamler, 2000). Hecht a Appelbaum (1988) zaznamenali známky kanibalismu již ve velikosti 8 mm a to ve stáří 3,5 dne po přechodu na exogenní potravu. Kanibalismus byl pozorován až do velikosti 80 mm (47 dní po započetí příjmu exogenní potravu). Avšak Baras a d'Almeida (2001) uvádějí projev kanibalismu I. typu už 3,8 dne po oplození jiker. Čas zahájení kanibalismu I. typu se úměrně prodlužoval se snižující se velikostní heterogenitou chovaných larev (Baras a d'Almeida, 2001).

2.5.6 Hustota obsádky

Hustota obsádky je v chovu poměrně důležitá. Touto problematikou se zabývali Hossain a kol. (1998), kteří ve své práci chovali larvy ve dvou hustotách a to $5 \text{ ks} \cdot \text{l}^{-1}$ a $10 \text{ ks} \cdot \text{l}^{-1}$. Vliv hustoty nasazení larev byl pak patrný zejména na hmotnosti jedinců, která byla vyšší při nižší obsádce. Během experimentu byl také zkoumán vliv světla a nabídky úkrytů na konečnou biomasu obsádky larev. I přes spolupůsobení několika faktorů, byl stále vliv hustoty obsádky významný (Hossain a kol., 1998). Naopak Baras a d'Almeida (2001) popisují hustotu obsádky larev keříčkovce jihoafrického jako pozitivní faktor při snížení míry kanibalismu I. i II. typu.

3. CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je shrnutí dosud známých informací z oblasti rané ontogeneze keříčkovce jihoafrického *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) se zaměřením na problematiku existence tzv. point of no return („bodu odkud již není návratu“) u tohoto rybího druhu. Tento jev, který je ve vědecké literatuře popisován na začátku larvální periody, je pak v rybářské praxi velice často podceněn, i když se jedná o klíčový problém při produkci kvalitního násadového materiálu ryb. Cílem předložené BP je tedy také experimentálně vysledovat existenci a biologické, produkční charakteristiky tohoto jevu u keříčkovce jihoafrického.

Dílčí cíle:

- Časově identifikovat mezní úseky v ontogenezi keříčkovce (– vykulení eleuterembryí, zahájení příjmu vnější potravy a stravení žloutkového váčku) při jedné konstantní teplotě.
- Popsat délkové a hmotnostní charakteristiky keříčkovce jihoafrického během sledovaného úseku rané ontogeneze.
- Zhodnotit přežívání, růst jedinců a míru kanibalismu v závislosti na délce hladovění a ontogenetickém vývoji.
- Určit tzv. point of no return v závislosti na zahájení podávání vnější potravy larev.
- Komparaci získaných dat v rámci BP a dostupných údajů z literatury odhadnout optimální moment pro začátek podávání vnější potravy.

4. MATERIÁL A METODIKA

Experiment probíhal v akvarijní místnosti ÚA FROV JU v Českých Budějovicích a měl dvě experimentální opakování při konstantní teplotě vody (24 °C) během inkubace jiker a odchovu. Zkoumaným druhem byl keříčkovec jihoafrický (*Clarias gariepinus*). První experiment probíhal od 13. 9. 2012 do 5. 10. 2012, druhý experiment probíhal od 12. 10. 2012 do 18. 11. 2012. Pokus byl založen na prodlužujícím se intervalu zahájení podávání exogenní potravy larvám v jednotlivých skupinách, kterých bylo celkem 29. K zahájení pokusu došlo nakrmením 1. skupiny ve věku 72 hPF (*hours post fertilization*). Každé další skupině pak byla poprvé předkládána exogenní potrava o 6 hodin později než předcházející skupině. Z hlediska ontogeneze se pokus zahájil ve stádiu eleuterembryí a jedinci byli sledováni dále během larvální periody. Každá skupina od zahájení krmení byla po dobu 30 dní krmena a poté byla analyzována. Během prvního experimentu došlo k bakteriální nákaze larev. Tímto by bohužel došlo ke zkreslení sledovaných parametrů, a proto byl tento pokus ukončen dříve (23 dní od zahájení pokusu) a výsledky z tohoto pokusu se následně využily při analýze dat jen v omezené míře.

4.1 Reprodukce

4.1.1 Příprava generačních ryb na umělý výtěr

Ryby určené pro výtěr byly vybrány z hejna generačních ryb ÚA FROV JU v Českých Budějovicích. V prvním experimentu bylo pro výtěr vybráno 6 generačních samic o hmotnosti od 2010 do 4786 g (průměr \pm S. D.: $2677,5 \pm 873,15$ g). S generačními rybami se manipulovalo pomocí rukávu na přenos ryb.

Pro druhý experiment byly vybrány 4 generační samice o hmotnosti od 2515 do 2658 g ($2610,25 \pm 78,53$ g).

Generační samice se injikovaly kombinovaným hormonálním přípravkem Ovopel (firma AgroFish, Maďarsko) k umělé stimulaci ovulace v dávce 1 peleta na kilogram živé hmotnosti. Stanovené množství pelet Ovopelu bylo rozdrceno v třecí misce a rozpuštěno ve fyziologickém roztoku. Injikaci samic předcházelo jejich usnutí v hřebíčkovém oleji (firma Dr, Kulich Pharma s. r. o., Hradec Králové) o koncentraci $0,1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$. Roztok Ovopelu byl samicím aplikován intramuskulárně do hřbetní

svaloviny (Příloha č. 3). Po injekci se samice umístily jednotlivě do boxů s vodou, ve kterých se až do ovulace udržovala teplota 22 °C. Před plánovanou dobou ovulace probíhala každou hodinu kontrola samic.

Vybraní samci nebyli injikováni a byli před výtěrem chováni společně v kádi o nízkém vodním sloupci, aby nedocházelo k agresivitě.

4.1.2 Výtěr

Ovulace jikernaček byla zaznamenána při teplotě 22 °C za 16 – 18 hodin po injekci Ovopelem. Před výtěrem bylo přistoupeno k anestézii samic opět hřebíčkovým olejem v koncentraci 0,1 ml · l⁻¹. Samice byly vytírány suchou metodou do misky pomocí masáže břišní partie (Příloha č. 4). Před samotným výtěrem jim byla osušena pohlavní papila. Získané jikry byly zváženy a zakryty vlhkým ručníkem, aby nedocházelo k jejich kontaminaci vodou a aktivaci jiker před vlastním oplozením. Po vytření všech samic byly jikry smíchány a rozděleny do několika misek.

Samci byli usmrceni a bylo jim odpreparováno testes (v 1. experimentu 3 samci a v 2. experimentu 2 samci). Osušené testes bylo posléze rozstříháno a propasírováno přes uhelon do misky. Z ní pak bylo sperma nabráno injekčními stříkačkami a aplikováno od každého samce do jiné misky s vytřenými jikrami. Osemeněné jikry se jemně promíchávaly a pro aktivaci se zalily malým množstvím vody. Po 2 minutách se jikry začaly čistit vodou od zbylého spermatu. Voda pro oplození jiker a jejich čištění měla stejnou teplotu jako v systému připraveném na inkubaci jiker a odchov eleuterembryí. Vzhledem k inkubaci na uhelonových sítěch se jikry neodlepkovaly. Na základě teploty 24 °C v systému pro inkubaci jiker, při které Hamáčková a kol. (2007) uvádějí inkubační dobu 29 hodin, nebylo nutné jikry koupat v protiplísňové koupeli.

Vytřené samice se v izolovaných boxech po dobu 24 hodin po výtěru zotavovaly, než byly navráceny do nádrže s generačním hejnem.

4.1.3 Inkubace jiker

Po vyčištění jiker od zbylého spermatu byly tyto nasazeny do inkubačního systému. Jednalo se o recirkulační systém, skládající se ze zásobní nádrže o objemu 400 l, kde se voda temperovala na 24 °C a provzdušňovala se. Z této nádrže byla provzdušněná a temperovaná voda čerpána do dvojitého žlabu o celkovém objemu 200 l, který sloužil jako systém pro inkubaci jiker a odchov eleuterembryí. Ve žlabu byla napnuta síťená

tkanina sahající cca 10 cm pod hladinu a na ni byly rovnoměrně umístěny oplozené jikry. Biologické čištění vody bylo zajištěno biofiltrem z hrubého bioakvacitu, kterým byla vybavena zásobní nádrž. Voda z biologického filtru se čerpala přes UV sterilizátor za účelem dezinfekce vody, především bakteriální inaktivace.

Jikry byly pravidelně čištěny od neoplozených bělajících jiker a kontrolovány.

4.2 Odchov

4.2.1 Nasazení

Po vykulení byla eleuterembrya určená pro následný pokus nasazena v prvním experimentu ve stáří 48 hPF a v druhém experimentu pak ve stáří 69 hPF. Důvodem pro pozdější nasazení v rámci druhého experimentu bylo lepší rozpoznání eleuterembryí nevhodných pro následný experiment. Embrya byla nasazena z odchovného systému, kde se líhla do kádinek v pokusném systému. Pokus zahrnoval 30 skupin a každá skupina měla 3 opakování (3 kádinky o objemu 2 l). Do každé z těchto kádinek bylo nasazeno 100 ks eleuterembryí. Těchto 90 kádinek (30 skupin) sloužilo k pokusu, kde bylo od 72 hPF (zahájení krmení první skupiny) vždy po šesti hodinách od následující skupiny zahájeno krmení další skupiny. Výjimkou byla 30. skupina, která po celou dobu pokusu nebyla krmena a sloužila jako hladová kontrola.

Pokusný systém dále zahrnoval 6 kádinek o objemu 5 litrů, do kterých se nasadilo přibližně 250 kusů eleuterembryí. Jedinci v těchto kádinkách také nebyli po celou dobu pokusu krmeni. Tyto kádinky sloužily pro odebírání vzorků, pro stanovení morfometrických a hmotnostních údajů při S_{95} (bod, kdy 95 % jedinců začalo přijímat exogenní potravu) a při Re_{95} (bod, kdy 95 % larev stráví většinu žloutkového váčku a energii získává pouze z exogenní potravu) (Příloha č. 5). Z těchto kádinek se odebíralo denně několik vzorků s larvami pro stanovení Re_{95} a právě z tohoto důvodu nebyly larvy krmeny. V tomto experimentu je čas, kdy nastal bod Re_{95} , stanoven pro larvy, které neměly možnost příjmu mixogenní potravu a po celou dobu využívaly pouze energii získanou ze žloutkového váčku.

4.2.2 Odchovný systém

Odchovný systém se skládal ze 4 žlabů o objemu 200 l (Příloha č. 6). Tři žlaby sloužily k umístění kádinek s larvami. V každém ze tří žlabů se nacházel rošt z trubek a pletiva, na který se umístily kádinky tak, aby byly v lázni vody o dané teplotě (Příloha

č. 7). Čtvrtý žlab sloužil jako zdroj temperované a provzdušněné vody potřebné při výměně vody v kádinkách. Pod roštem byla ve všech žlabech úhlopříčně umístěna dvojice akvaristických topení temperujících vodu na 24 °C. U topení byla opět úhlopříčně umístěna čerpadla z důvodu rovnoměrného míchání vody, aby nedocházelo ve žlabu k teplotním rozdílům. Teplota ve žlabu byla udržována termostatem (s přesností měření teploty na 0,1 °C), který dle potřeby spínal jednotlivá akvaristická topení.

Ve třech žlabech bylo dohromady umístěno 90 kádinek o objemu 2 litry a 6 kádinek o objemu 5 litrů. Do každé kádinky se zavedlo vzduchování.

Voda v kádinkách se měnila každý den ze žlabu se zásobní vodou, která byla temperována a provzdušňována stejně jako v odchovných žlabech.

4.2.3 Zahájení pokusu a průběh

Celkem 90 kádinek bylo rozděleno na 30 skupin, tzn., že každá skupina měla 3 opakování. Pokus byl zahájen nakrmením první experimentální skupiny. K tomu došlo ve věku 72 hPF. Od zahájení pokusu se vždy v intervalu 6 hodin krmila další o 6 hodin starší skupina. Krmení tak bylo naposledy zahájeno u 29. skupiny a to ve věku 240 hPF. Jako potrava byla předkládána dekapulovaná vajíčka artémie solné (*Artemia salina*) a to – *ad-libitum* během celého pokusu. Poslední 30. skupina sloužila jako negativní (hladová) kontrola a nebyla tak během celého pokusu krmena. Skupina 1 až 29 byla krmena každá po dobu 30 dní.

V průběhu pokusu se každý den larvám měnila voda ze zásobní nádrže, kádinky se kontrolovaly a případní uhynulí jedinci byli odebráni a zapsáni do protokolu. Každý pátý den od zahájení pokusu došlo k přelovení všech kádinek a stanovení přesného počtu žijících jedinců. Toto přelovení sloužilo k celkové sumarizaci žijících jedinců s jedinci uhynulými, tedy zapsanými do protokolu. Pokud celková suma činila méně jak 100 kusů (počet nasazených eleuterembryí), chybějící jedinci byli zapsáni do protokolu jako oběti kanibalismu. Dále před a po výměně vody bylo každý den změřeno pH a koncentrace kyslíku ve vodě pomocí kapesního altimetru HQ 40d multi (firma Hach, Německo).

Jedinci z každé z přeživších experimentálních skupin nebyli 24 hodin před vlastním ukončením pokusu krmeni, aby došlo k vyprázdnění trávicího traktu. Pokud by tak nebylo učiněno, došlo by ke zkreslení při stanovení hmotnosti jedinců.

4.3 Odběr vzorků

4.3.1 Vzorek jiker

Průběh jednotlivých odběrů vzorků byl předem dán především jednotlivými z hlediska ontogeneze významnými událostmi. Jako první se odebral vzorek jiker při výtěru do předem zvážené epruvety a to separátně od každé generační samice. Tento vzorek byl zvážen s jikrami a zafixován ve 4 % formaldehydu. Následně se ze vzorku stanovila hmotnost jikry, pracovní absolutní plodnost, pracovní relativní plodnost a relativní plodnost.

4.3.2 Vzorky pro stanovení morfometrických parametrů

Další v průběhu pokusu odebrané byly vzorky eleuterembryí a larev a to v těchto bodech – H₉₅ (bod, kdy došlo k vykulení 95 % eleuterembryí), S₉₅, Re₉₅. Tyto vzorky obsahovaly vždy 30 jedinců. Při H₉₅ byl tento vzorek 30 eleuterembryí odebrán přímo z inkubačního systému. Vzorky pro stanovení morfometrie při S₉₅ a Re₉₅ byly odebrány z 6 kádinek, v každé z nich bylo nasazeno přibližně 200 eleuterembryí, které nebyly po celou dobu pokusu krmeny. Veškerá stanovená morfometrická data při S₉₅ a Re₉₅ byla data jedinců, kteří nepřijímali potravu (hladověli).

Po ukončení pokusu (30. den krmení larev) se také odebral vzorek pro morfologicko – gravimetrické stanovení. V prvním kroku byl vytvořen směsný vzorek, který zahrnoval jedince z celé skupiny (3 kádinky dohromady). Z tohoto vzorku se pak odstranila 2 % nejmenších a 2 % největších jedinců. Po jejich odstranění bylo dále náhodně vybráno 30 jedinců pro stanovení velikosti a tito se použili pro stanovení hmotnosti (viz kapitola 4.3.3 Vzorky pro stanovení hmotnosti).

Vzorky pro stanovení morfometrických ukazatelů během klíčových událostí v rané ontogenezi při H₉₅, S₉₅, Re₉₅ a vlastním ukončení pokusu nebyly fixovány. Analýza nativních vzorků proběhla bezprostředně po jejich odebrání.

4.3.3 Vzorek pro stanovení hmotnosti

Vzorky pro stanovení hmotnosti obsahovaly nejméně 120 jedinců a byly opět odebrány v těchto klíčových událostech – H₉₅, S₉₅, Re₉₅. Eleuterembrya při H₉₅ byla odebrána přímo z inkubačního systému. Vzorky odebrané při S₉₅ a Re₉₅ se odebíraly

opět z 6 kádinek s nekrmenými jedinci. Proto i v tomto případě se hmotnost stanovila pro larvy, které získávaly energii pouze z absorpce žlutkového váčku.

Vzorky pro stanovení hmotnosti při vlastním ukončení jednotlivých skupin obsahovaly různý počet jedinců dle mortality v dané skupině. Jedinci, kteří byli odebráni ze skupiny pro stanovení velikosti, se po vyfotografování opět vrátili do směsného vzorku. Avšak stejně jako při odběru vzorku pro stanovení velikosti, vzorky pro stanovení hmotnosti neobsahovaly 2 % nejmenších a 2 % největších jedinců. Takto připravený vzorek živých jedinců se převedl do nádob o objemu 2 l a ihned přepravil pro stanovení hmotnosti.

4.4 Analýza dat

4.4.1 Stanovení plodnosti a hmotnosti jikry

Vzorek jiker, který byl odebrán při výtěru generačních ryb, byl před zafixováním zvážen na analytických vahách (s přesností na 0,0001 g). Od hmotností epruvety se vzorkem byla odečtena hmotnost samotné epruvety pro získání hmotnosti jiker ve vzorku ($W_{vz.}$ – hmotnost jiker ve vzorku). Jikry ze vzorku byly dále převedeny do Petriho misky a pod stereoskopickým mikroskopem se stanovil jejich přesný počet (n). Pro výpočet váhy jedné jikry (W_j) byl stanoven následující vzorec:

$$W_j = W_{vz.} \div n$$

Ze získané W_j byla dále vypočítána pracovní absolutní plodnost (PAP) generačních samic s použitím vzorce:

$$PAP = W_{h.j.} \div W_j ,$$

kde $W_{h.j.}$ je hmotnost jiker vytřených z jedné generační samice.

Dalším sledovaným parametrem byla pracovní relativní plodnost (PRP) generačních samic a byla stanovena vzorcem:

$$PRP = (W_{h.j.} \div W_j) \div W_{gen.} ,$$

kde $W_{gen.}$ je hmotnost dané samice.

Jako poslední byla hodnocena relativní plodnost (RP), která byla stanovena vzorcem:

$$RP [\%] = W_{h.j.} \div W_{gen.}$$

4.4.2 Stanovení morfometrických parametrů

Stanovení morfometrických parametrů probíhalo ve dvou částech. První započala ihned po odběru vzorku 30 jedinců pro stanovení morfometrie v jednotlivých bodech vývoje. Jedinci byli umístěni do anestézie z hřebíčkového oleje a poté jednotlivě vyfotografováni s měřítkem pod stereoskopickým mikroskopem, který byl vybaven digitálním fotoaparátem značky Olympus.

Druhá část – optická analýza obrazu probíhala v programu Micro Image (firma Olympus, Česká republika). V programu byly ze získaných fotografií stanoveny základní morfometrické parametry (Příloha č. 8). Při H₉₅ a S₉₅ byla stanovena TL (z anglického – *total length*), SL (z anglického – *standard length*), PAL (z anglického – *preanal length*), YsL (z anglického – *yolk-sac length*) a YsD (z anglického – *yolk-sac deep*). Při absorpci žloutkového vřívku (Re₉₅) a při vlastním ukončení pokusu (30. den krmení larev) byly stanoveny tyto parametry TL, SL a PAL. Ze získaných parametrů YsL a YsD byl vypočítán objem žloutkového vřívku – YsV (z anglického – *yolk-sac volume*). Pro keříčkovce jihoafrického byl použit vzorec:

$$YsV = \frac{\pi}{6} \cdot YsL \cdot YsD \quad (\text{Blaxter a Hempel, 1963}).$$

4.4.3 Stanovení velikostního rozložení

Stanovení velikostního rozložení proběhlo při vlastním ukončení pokusu (30. den krmení larev). Během této fáze byli v každé skupině jedinci rozděleni na základě celkové délky těla do 3 kategorií – velcí jedinci, středně velcí jedinci a malí jedinci. Stanovení probíhalo ze smíšeného vzorku (3 opakování) první experimentální skupiny. Z tohoto smíšeného vzorku se na základě velikostního rozdílu odebrali velcí, středně velcí a malí jedinci a byli změřeni. Ze získaných celkových délek těla (TL) byly tyto tři kategorie definovány délkovým intervalem. Platí tedy, že za středně velké byli určeni jedinci v délkovém intervalu od 24 do 17 mm. Jedinci o velikosti větší než 24 mm byli zapsáni jako velcí jedinci, zatímco, pokud dosahovali velikosti menší 17 mm, byli zapsáni jako malí jedinci. Na základě těchto pravidel byly při ukončení kategorizovány všechny následující skupiny. Získaná data velikostního rozložení pro jednotlivé skupiny

(skupina 1 – 29) se přepočítala na procentuální zastoupení. Pro dané velikostní kategorie byla data přepočítána pomocí následujícího vzorce:

$$\text{Zastoupení kategorie [\%]} = (N \div N_f) \cdot 100,$$

kde N označovalo počet jedinců dané kategorie a N_f (z anglického – *final number of fish*) představovalo celkový počet přežívajících jedinců na konci pokusu (30. den krmení) pro danou skupinu. Stanovení velikostního rozložení sloužilo k prokázání možného vlivu zahájení krmení na početnosti jednotlivých kategorií.

4.4.4 Stanovení hmotnosti

Vzorek pro stanovení průměrné individuální hmotnosti (při H_{95} , S_{95} a Re_{95}) obsahující nejméně 120 jedinců byl rozdělen po 30 jedincích a měl vždy alespoň 4 opakování. Vzorek pro stanovení gravimetrických údajů při ukončení pokusu (30. den krmení) byl také vždy rozdělen po 30 jedincích, avšak celkový počet jedinců pro stanovení hmotnosti se lišil na základě mortality v jednotlivých experimentálních skupinách. Jedinci byli usmrceni v roztoku z hřebíčkového oleje o vysoké koncentraci a umístění na předem zvážený uhelon. Ten byl i s larvami usušen na filtračním papíru. Takto připravený vzorek se zvážil na analytických vahách pro stanovení mokré hmotnosti – WW (z anglického – *wet weight*). Suchá hmotnost – DW (z anglického – *dry weight*) byla stanovena pro předem připravené vysušené larvy, kdy se zvážené larvy (opět vždy po 30 kusech) převedly z uhelonu na předem zvážený kousek alobalu a uložily se do sušárny vyhřáté na 55 °C na dobu 12 hodin. Poté byly vzorky vyjmuty a uloženy na 10 minut do exsikátoru se silikagelem a následně zváženy na analytických vahách.

4.4.5 Stanovení přežívání

Přežívání bylo stanoveno na základě získaných dat během jednotlivých přelovení, která byla prováděna od nasazení jedinců do odchovného systému. Během každého přelovení byl zapsán do protokolu přesný počet žijících jedinců. Z pořízených dat se stanovil průběh přežívání během celého pokusu v pětidenních intervalech. Pro stanovení přežívání na konci pokusu bylo použito počtu jedinců přežívajících a spočítaných pro jednotlivé skupiny při vlastním ukončení pokusu.

4.4.6 Stanovení míry kanibalismu

Pro stanovení míry kanibalismu byla stejně jako u přežívání použita data získaná při jednotlivých přeloveních a při ukončení pokusu. Tedy počet jedinců, kteří byli označeni jako oběti kanibalismu (viz kapitola 4.2.3. Zahájení pokusu a průběh). Byla tak stanovena aktuální míra kanibalismu [%] pro jednotlivé pětidenní intervaly. Na základě sečtení jedinců (obětí kanibalismu) během celého pokusu se stanovila celková míra kanibalismu [%]. Pro její výpočet byl použit vzorec navržený Adamkem a kol. (2011):

$$\text{Canibalism} [\%] = \{ [N_i - (N_f + N_d)] \cdot N_i^{-1} \} \cdot 100,$$

kde N_i (z anglického – *initial number of fish*) označuje počet jedinců na začátku období, N_f (z anglického – *final number of fish*) označuje počet živých jedinců na konci období a N_d (z anglického – *number of dead fish*) označuje počet nenalezených mrtvých jedinců (úmrtnost bez obětí kanibalismu).

4.4.7 Analýza dat

Získaná data byla statisticky vyhodnocena v programu STATISTICA 10.0 (firma Stat Soft). Časový průběh mezních bodů rané ontogeneze (H_{95} , S_{95} , Re_{95}), WW a morfometrické údaje (při H_{95} , S_{95} , Re_{95}) se vyhodnotily T – testem pro nezávislé vzorky, pro stanovení rozdílu mezi oběma experimentálními opakováními. Další použitou analýzou pro stanovení závislosti proměnných na zahájení krmení, byla jednocestná ANOVA společně s Tukeyho HSD testem. Tyto statistické metody se použily pro zhodnocení vlivu různého načasování okamžiku zahájení krmení (jednotlivých skupin) na sledované morfometrické a gravimetrické ukazatele v klíčových okamžicích ontogeneze (TL, SL, PAL, WW, DW), na velikostní rozložení jedinců, na míru kanibalismu a přežívání během celého pokusu.

Ke grafickému znázornění jednotlivých vztahů byl využit program Microsoft Office Excel 2007 (firma Microsoft).

5. VÝSLEDKY

Bakalářská práce se skládala ze dvou metodicky stejných experimentů. Bohužel v prvním experimentu došlo k neočekávané bakteriální nákaze larev keříčkovce jihoafrického. Z tohoto důvodu byl první experiment ukončen před plánovaným ukončením (30. den krmení). Proto se z prvního pokusu v rámci BP využily a hodnotily pouze morfometrické a gravimetrické ukazatele získané při H_{95} , S_{95} a Re_{95} a dále časová škála průběhu těchto klíčových událostí.

V průběhu prvního experimentu byly naměřeny následující fyzikálně chemické parametry vody v odchovných nádržích. Průměrná zaznamenaná teplota byla $24,0 \pm 0,2$ °C (průměr \pm S. D.), dalším sledovaným parametrem byl obsah rozpuštěného kyslíku, jeho průměrná hodnota během pokusu dosahovala $7,9 \pm 0,2$ mg \cdot l⁻¹. Posledním sledovaným parametrem bylo pH, jehož průměrná hodnota byla $7,5 \pm 0,2$. Stejně parametry vody se sledovaly i v průběhu druhého experimentu s výslednou průměrnou teplotou $24,1 \pm 0,2$ °C, průměrným obsahem rozpuštěného kyslíku ve vodě $7,3 \pm 0,4$ mg \cdot l⁻¹ a s průměrným pH $7,3 \pm 0,2$.

5.1 Plodnost

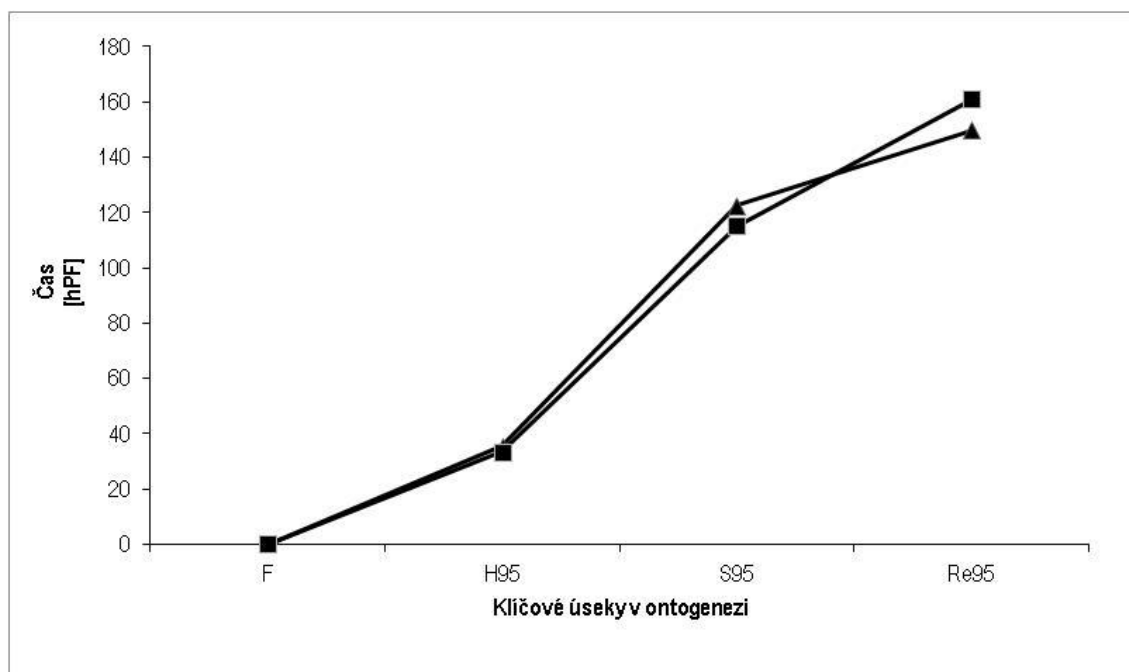
Plodnost samic a průměrná hmotnost jedné jikry byly stanoveny individuálně pro každou samici a jsou zachyceny v tabulce č. 2. Pracovní absolutní plodnost (PAP) nabývala hodnot v rozmezí od 112 do 282 tisíc jiker na jednu samici (průměr \pm S. D.: $180 \pm 62 \cdot 10^3$ jiker \cdot samici⁻¹). Hodnoty pracovní relativní plodnosti (PRP) byly vytyčeny v rozmezí od 43,5 do 117,3 tisíc jiker \cdot kg⁻¹ živé hmotnosti samice ($76,6 \pm 29,3 \cdot 10^3$ jiker \cdot kg⁻¹ \cdot samice⁻¹). Relativní plodnost (RP) samic dosahovala hodnot od 5,66 do 15,84 % ($10,72 \pm 4,20$ %). Průměrná hmotnost jedné jikry pro individuální samice se pohybovala v rozmezí od 1,30 do 1,48 mg ($1,36 \pm 0,06$ mg).

Tabulka č. 2: Individuální celková hmotnost samic ($W_{gen.}$). Průměrná hmotnost jikry (W_j). Pracovní absolutní plodnost (PAP), pracovní relativní plodnost (PRP) a relativní plodnost (RP) pro samice keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) použité v rámci 1. a 2. experimentu.

$W_{gen.}$ [g]	W_j [mg]	PAP [tisíc ks jiker · samice ⁻¹]	PRP [tisíc ks jiker · kg ⁻¹ · samice ⁻¹]	RP [%]
2010	1,48	171,69	85,41	12,66
2190	1,43	238,71	109,00	15,62
2405	1,35	282,22	117,35	15,84
2596	1,36	117,28	45,18	6,12
2575	1,30	111,91	43,46	5,66
2623	1,41	155,97	59,46	8,41

5.2 Časová determinace klíčových úseků ontogeneze

Inkubační doba (oplození až vykulení, $H_0 - H_{95}$) trvala 35,5 (1. experiment), resp. 33,4 (2. experiment) hodin. Larvy začaly přijímat vnější potravu (S_{95}) ve stáří 122,5 hPF (1. experiment), resp. 115,2 hPF (2. experiment). Ke strávení žloutkového váčku (Re_{95}) u larev, které nebyly krmeny, došlo ve věku 149,7 hPF (1. experiment), resp. 160,9 hPF (2. experiment). Časová škála průběhu jednotlivých dílčích úseků ontogeneze je zaznamenána v grafu č. 1. Časový interval mezi vykulením a zahájením příjmu exogenní potravy ($H_{95} - S_{95}$) odpovídal 87 (1. experiment) a 81,8 (2. experiment) hodinám. Následující interval mezi zahájením příjmu exogenní potravy a strávením žloutkového váčku ($S_{95} - Re_{95}$) byl stanoven na 27,2 (1. experiment) a 45,7 (2. experiment) hodiny. Rozdíl nástupu jednotlivých klíčových úseků v ontogenezi mezi 1. a 2. experimentem nebyl statisticky signifikantní na základě provedeného T-testu pro nezávislé vzorky [$p = 0,976$; $df = 4$].



Graf č. 1: Znárodnění časového uspořádnání [hPF] klíčových úseků rané ontogeneze keřičkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) a to – oplození jiker (F), vykulení eleuterembryí (H₉₅), zahájení příjmu exogenní potravy (S₉₅) a strávení žloutkového váčku (Re₉₅) v 1. a 2. experimentu.

–▲–, 1. experiment; –■–, 2. experiment

5.3 Sledované morfometrické ukazatele v klíčových bodech ontogeneze (H₉₅, S₉₅, Re₉₅)

V prvním experimentu byly při vykulení eleuterembryí (H₉₅) naměřeny následující průměrné morfometrické parametry. Celková délka těla (TL) dosáhla průměru $4,56 \pm 0,12$ mm (průměr \pm S. D.), délka těla (SL) byla stanovena na $4,48 \pm 0,12$ mm a preanální vzdálenost (PAL) byla určena na $2,91 \pm 0,1$ mm. Průměrný objem žloutkového váčku (YsV) při vykulení eleuterembryí (H₉₅) byl stanoven na $1,70 \pm 0,32$ μm^3 . Při zahájení příjmu exogenní potravy byla naměřena průměrná celková délka těla (TL) larev $7,48 \pm 0,26$ mm, průměrná délka těla (SL) $7,20 \pm 0,30$ mm a průměrná preanální vzdálenost (PAL) $3,57 \pm 0,16$ mm. Průměrný objem žloutkového váčku (YsV) v tomto klíčovém úseku byl stanoven na $0,09 \pm 0,02$ μm^3 . Při strávení žloutkového váčku dosahovala průměrná celková délka těla (TL) larev (nekrmených vnější potravou) $7,86 \pm 0,21$ mm, průměrná délka těla (SL) $7,29 \pm 0,19$ mm a průměrná preanální vzdálenost (PAL) byla $3,52 \pm 0,13$ mm.

V druhém experimentu byla vykultivovanými eleuterembryími (H_{95}) naměřena průměrná celková délka těla (TL) $4,16 \pm 0,12$ mm, průměrná délka těla (SL) $4,08 \pm 0,12$ mm a preanální vzdálenost (PAL) $2,91 \pm 0,10$ mm. V tomto úseku byl také stanoven průměrný objem žloutkového vaku (YsV) na $0,94 \pm 0,24 \mu\text{m}^3$. V následujícím úseku zahájení příjmu exogenní potravy (S_{95}) byla naměřena průměrná celková délka těla (TL) larev $7,29 \pm 0,19$ mm, průměrná délka těla (SL) $6,75 \pm 0,19$ mm a průměrná preanální vzdálenost (PAL) $3,29 \pm 0,09$ mm. V klíčovém úseku zahájení příjmu exogenní potravy (S_{95}) dosahoval průměrný objem žloutkového vaku (YsV) $0,06 \pm 0,03 \mu\text{m}^3$. Při strávení žloutkového vaku (Re_{95}) byly měřeny průměrné morfometrické parametry nekrmených larev. Celková délka těla (TL) v tomto úseku odpovídala hodnotám $7,28 \pm 0,15$ mm, délka těla (SL) $6,72 \pm 0,16$ mm a preanální vzdálenost (PAL) $3,24 \pm 0,08$ mm. Morfometrické parametry stanovené v klíčových ontogenetických bodech v 1. a 2. experimentu jsou uvedeny v tabulce č. 3. Rozdíl mezi morfometrickými parametry v 1. a 2. experimentu nebyl statisticky signifikantní na základě provedeného T-testu pro nezávislé vzorky [$p = 0,731$; $df = 20$].

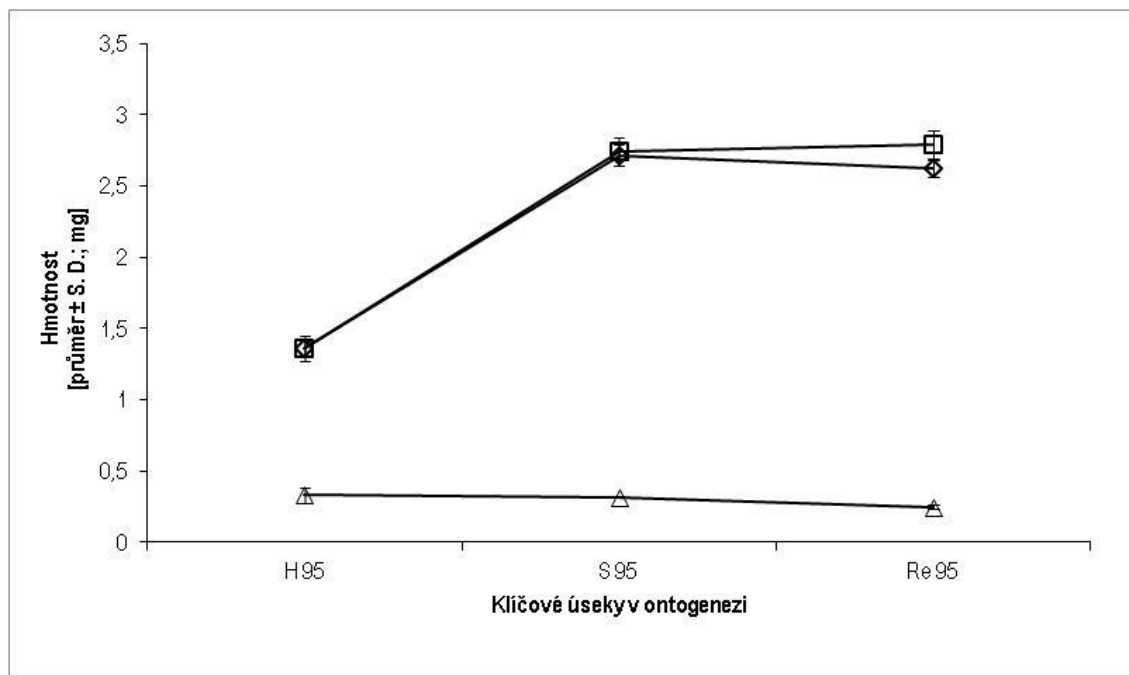
Tabulka č. 3: Průměrné morfometrické parametry (celková délka těla – TL, délka těla – SL, preanální vzdálenost – PAL a objem žloutkového vaku – YsV) keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) stanovené v klíčových úsecích rané ontogeneze (líhnutí eleuterembryí – H_{95} , zahájení příjmu exogenní potravy – S_{95} a strávení žloutkového vaku – Re_{95}) v 1. a 2. experimentu.

Klíčové úseky ontogeneze	H_{95}	S_{95}	Re_{95}
Morfometrické parametry	1. experiment		
TL [mm]	$4,56 \pm 0,12$	$7,48 \pm 0,26$	$7,86 \pm 0,21$
SL [mm]	$4,48 \pm 0,12$	$7,20 \pm 0,30$	$7,29 \pm 0,19$
PAL [mm]	$2,91 \pm 0,10$	$3,57 \pm 0,16$	$3,52 \pm 0,13$
$YsV [\mu\text{m}^3]$	$1,70 \pm 0,32$	$0,09 \pm 0,02$	–
	2. experiment		
TL [mm]	$4,16 \pm 0,12$	$7,29 \pm 0,19$	$7,28 \pm 0,15$
SL [mm]	$4,08 \pm 0,12$	$6,75 \pm 0,19$	$6,72 \pm 0,16$
PAL [mm]	$2,68 \pm 0,07$	$3,29 \pm 0,09$	$3,24 \pm 0,08$
$YsV [\mu\text{m}^3]$	$0,94 \pm 0,24$	$0,06 \pm 0,03$	–

5.4 Gravimetrické ukazatele v klíčových bodech ontogeneze (H_{95} , S_{95} , Re_{95})

V prvním experimentu byla určena pouze průměrná mokrá hmotnost (WW). Při líhnutí (H_{95}) dosahovala WW eleuterembryí v průměru $1,36 \pm 0,05$ mg (průměr \pm S. D.). Při zahájení příjmu exogenní potravy (S_{95}) byla stanovena průměrná mokrá hmotnost larev na $2,72 \pm 0,07$ mg. Průměrná mokrá hmotnost (nekrmených larev) při strávení žloutkového váčku (Re_{95}) dosahovala $2,62 \pm 0,06$ mg (Graf č. 2).

V druhém experimentu byla stanovena jak mokrá hmotnost (WW), tak suchá hmotnost (DW) (Graf č. 2). Průměrná mokrá hmotnost (WW) vykulených eleuterembryí (H_{95}) v tomto experimentu byla určena na $1,36 \pm 0,09$ mg. Suchá váha (DW) ve stejném klíčovém úseku (H_{95}) dosahovala v průměru $0,33 \pm 0,05$ mg. V následujícím klíčovém úseku zahájení příjmu exogenní potravy (S_{95}) dosahovala průměrná mokrá hmotnost (WW) larev $2,74 \pm 0,10$ mg a průměrná suchá hmotnost (DW) byla stanovena na $0,32 \pm 0,01$ mg. Při strávení žloutkového váčku (Re_{95}) byla průměrná mokrá hmotnost (WW) $2,79 \pm 0,10$ mg, zatímco průměrná suchá hmotnost (DW) byla stanovena na $0,25 \pm 0,02$ mg u nekrmených larev keříčkovce jihoafrického. Pro mokrou hmotnost (WW) v klíčových úsecích ontogeneze v 1. a 2. experimentu byl proveden T-test pro nezávislé vzorky, na jehož základě se zjistilo, že rozdíl ve WW mezi oběma experimenty není statisticky významný [$p = 0,993$; $df = 4$].



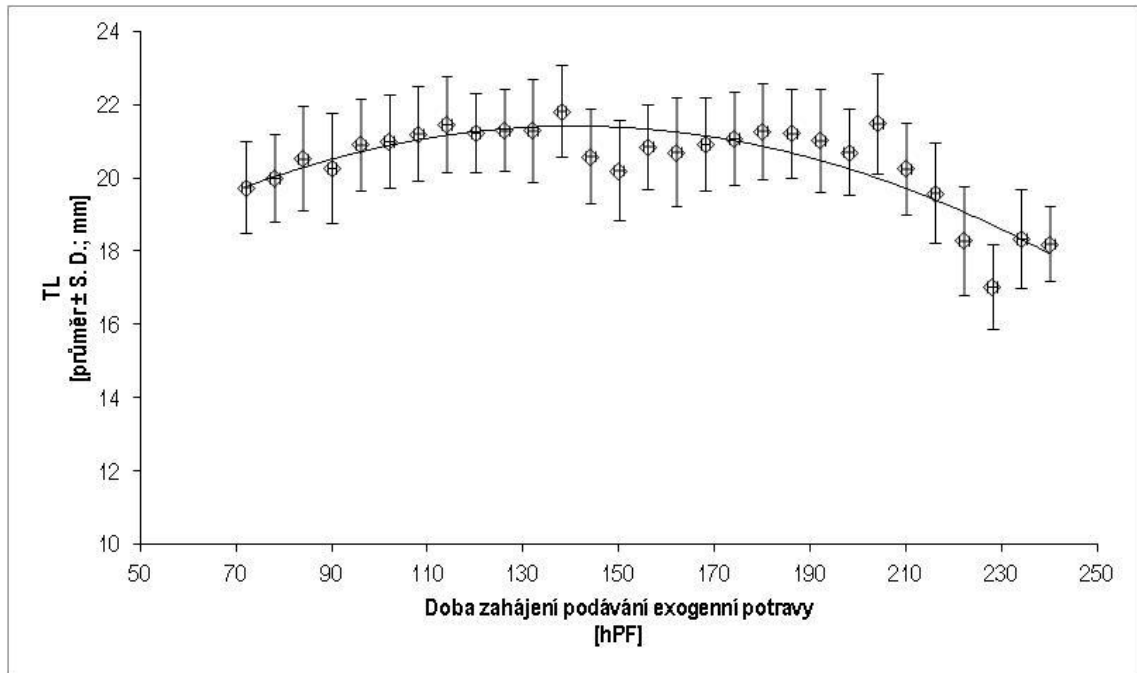
Graf č. 2: Znárodnění průměrné mokré hmotnosti (WW) a suché hmotnosti (DW) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) v klíčových úsecích rané ontogeneze (líhnutí eleuterembryí – H₉₅, zahájení příjmu exogenní potravy – S₉₅ a strávení žloutkového vácku – Re₉₅) v 1. a 2. experimentu.

–◇–, WW v 1. experimentu; –□–, WW v 2. experimentu; –△–, DW v 2. experimentu

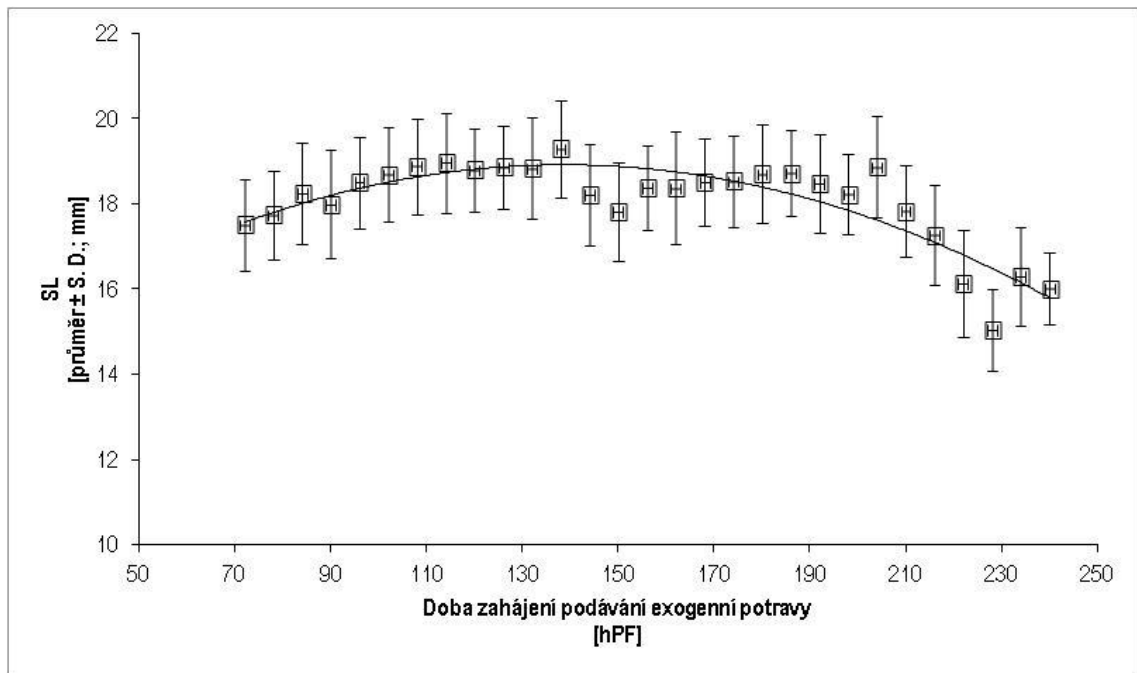
5.5 Vliv zahájení podávání vnější potravy na morfometrické parametry

Na základě statistické analýzy (jednocestná analýza variance s následným Tukeyho testem) provedené po ukončení pokusu (30. den krmení) bylo zjištěno, že doba zahájení podávání vnější potravy statisticky průkazně ($P < 0,01$) ovlivnila všechny sledované velikostní parametry: celkovou délku těla (TL) [$F_{(28,841)} = 22,992$; $p < 10^{-5}$] (Graf č. 3), délku těla (SL) [$F_{(28,841)} = 24,502$; $p < 10^{-5}$] (Graf č. 4) a preanální vzdálenost (PAL) [$F_{(28,841)} = 20,443$; $p < 10^{-5}$] (Graf č. 5). Trend popisované závislosti v rámci skupin byl v grafu č. 3, 4 a 5 definován polynomicou křivkou. Průměrná celková délka těla (TL) na konci pokusu (30. den krmení) se v rámci skupin pohybovala v rozmezí od $17,04 \pm 1,15$ mm (zahájení krmení ve stáří 228 hPF) do $21,83 \pm 1,26$ mm (zahájení krmení ve stáří 138 hPF). Na základě Tukeyho testu bylo zjištěno, že skupiny 1 až 24 (zahájení krmení ve stáří 72 – 210 hPF) se mezi sebou navzájem neliší, tj. nebyl mezi nimi nalezen signifikantní rozdíl. Podobně nebyl nalezen signifikantní rozdíl ani mezi skupinami 25 až 29 (zahájení krmení ve stáří 216 – 240 hPF). Avšak při srovnání všech

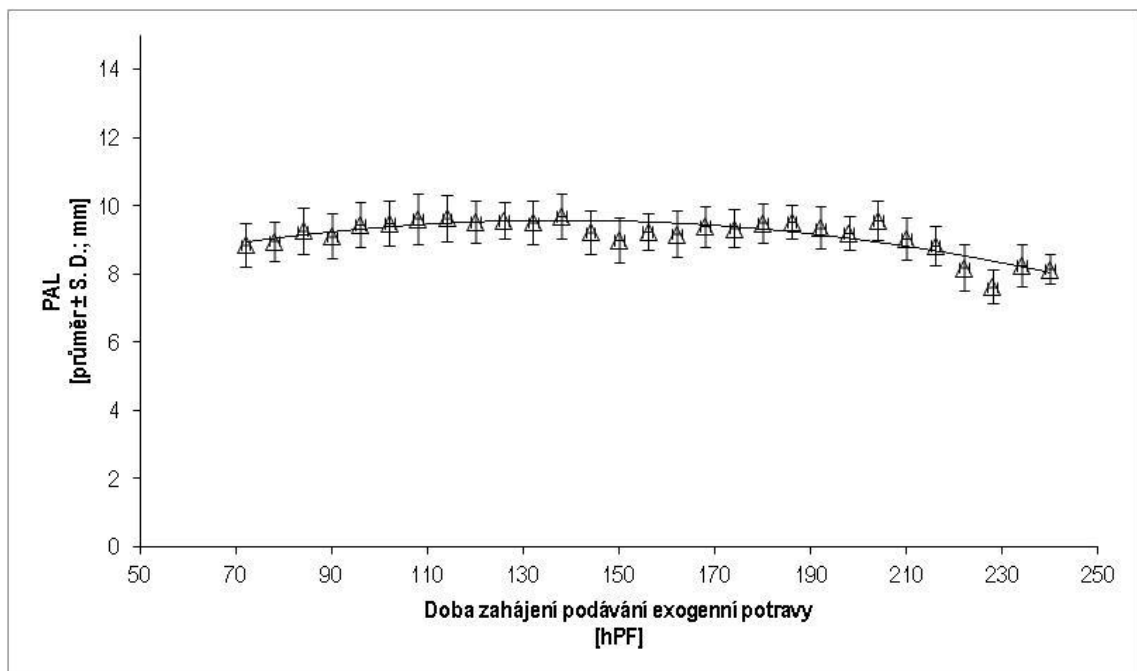
skupin dohromady, bylo Tukeyho testem zjištěno, že skupiny 25 až 29 se statisticky průkazně liší od skupin 1 až 24.



Graf č. 3: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou celkovou délku těla (TL) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomiální funkcí ($y = -0,0004x^2 + 0,0992x + 14,442$; $R^2 = 0,7268$).



Graf č. 4: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou délku těla (SL) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomiální funkcí ($y = -0,0003x^2 + 0,0842x + 13,077$; $R^2 = 0,7427$).



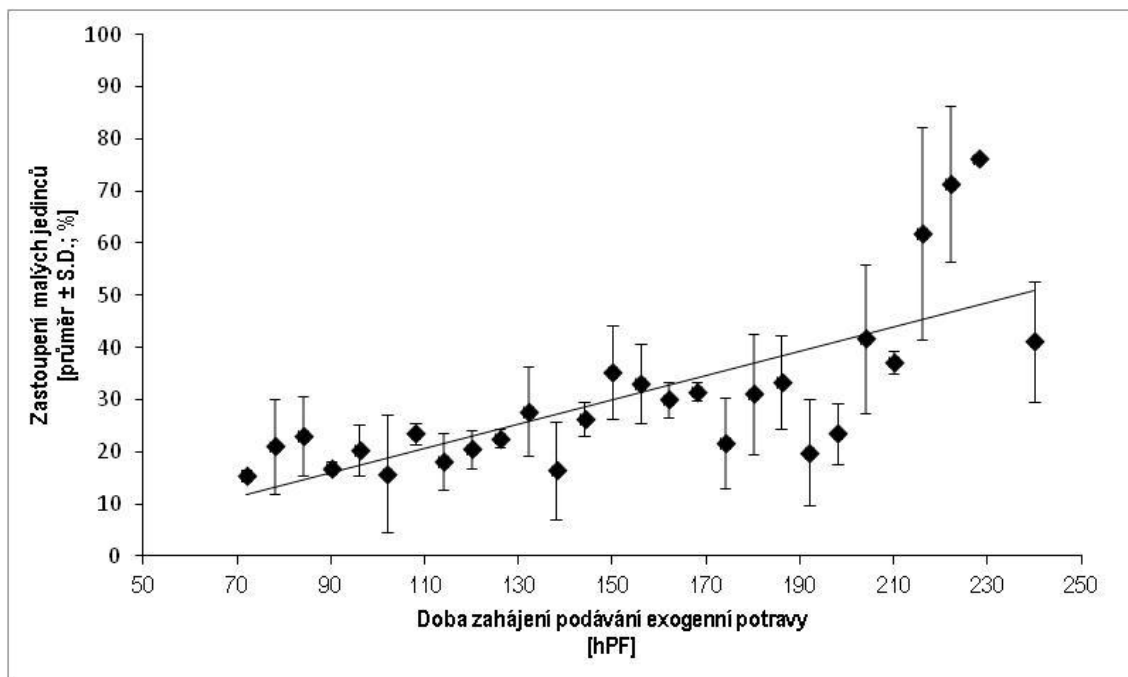
Graf č. 5: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou preanální vzdálenost (PAL) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomiální funkcí ($y = -0,0001x^2 + 0,0407x + 6,7587$; $R^2 = 0,7091$).

5.6 Vliv zahájení podávání vnější potravy na velikostní strukturu (rozložení ve skupinách)

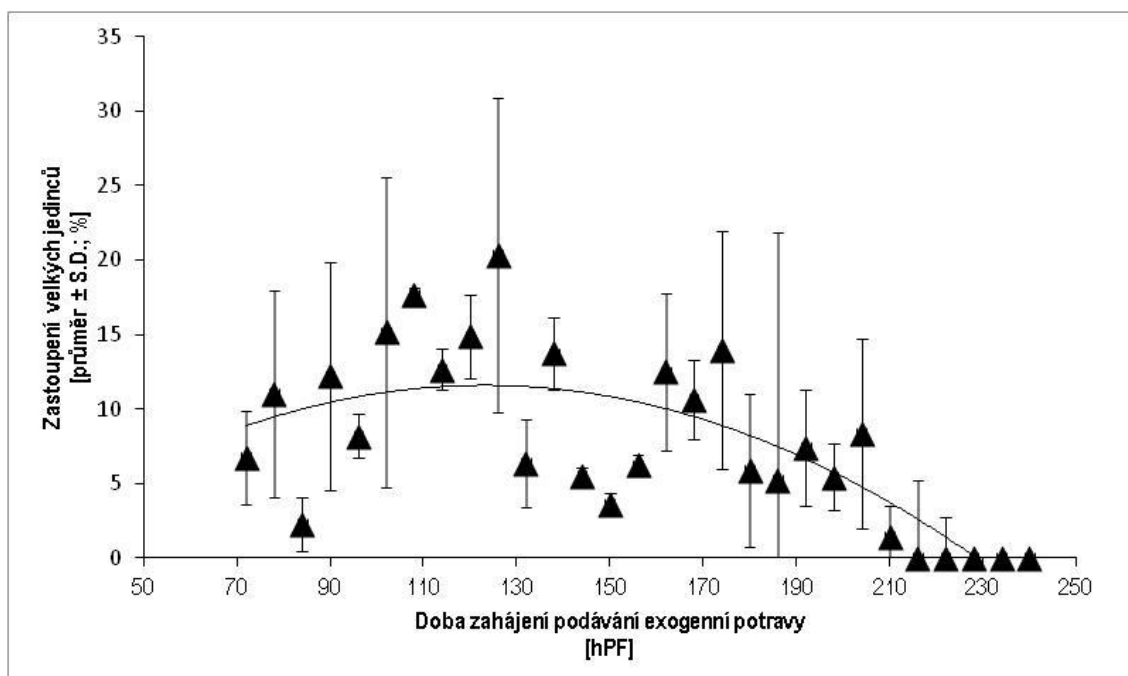
Statistickou analýzou (jednocestnou analýzou variance) bylo na konci pokusu (30. den krmení) zjištěno, že doba zahájení podávání exogenní potravy signifikantně ($P < 0,01$) ovlivnila procentuální zastoupení všech tří velikostních kategorií: malých jedinců [$F_{(28, 50)} = 2,9620$; $p = 0,0004$] (Graf č. 6), velkých jedinců [$F_{(28,50)} = 2,5093$; $p = 0,00223$] (Graf č. 7) a středně velkých jedinců [$F_{(28,50)} = 2,2117$; $p = 0,00708$] (Graf č. 8). Avšak trend závislosti jednotlivých velikostních kategorií se lišil. Procentuální zastoupení malých jedinců ve skupinách postupně stoupalo s prodlužující se dobou zahájení podávání exogenní potravy. Nejvyšší procentuální zastoupení malých jedinců v rámci 29 skupin (zahájení krmení ve stáří 72 – 240 hPF) bylo na konci pokusu zaznamenáno ve 27. skupině (zahájení krmení 228 hPF), tedy u larev s nejdelším intervalem absence krmiva. Naopak nejnižší procentuální zastoupení malých jedinců bylo zapsáno v 1. skupině (zahájení krmení 72 hPF).

Trend procentuálního zastoupení velkých jedinců na konci pokusu v jednotlivých skupinách byl proložen polynomicou křivkou. Nejvyšší procento zastoupení velkých jedinců bylo zaznamenáno v 10. skupině (zahájení krmení 126 hPF). Ve 27. až 29. skupině (zahájení krmení 228 až 240 hPF) nebyli nalezeni žádní jedinci odpovídající kategorii velkých jedinců a to v žádném ze tří opakování těchto skupin.

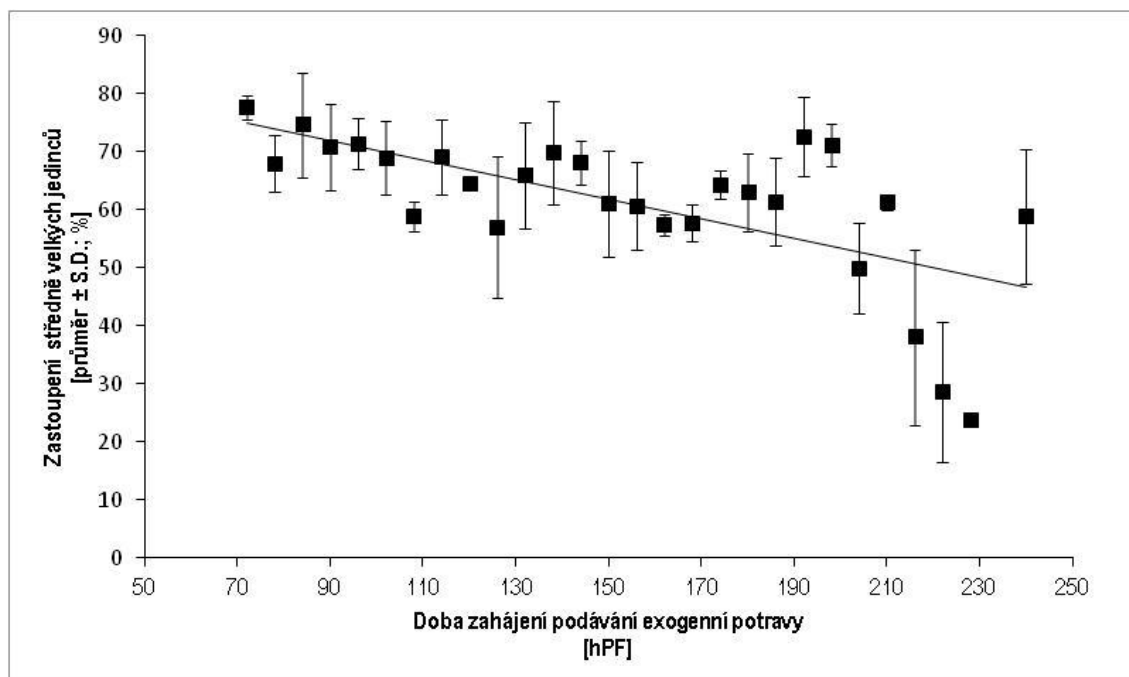
Procentuální zastoupení středně velkých jedinců klesalo s prodlužující se dobou zahájení podávání exogenní potravy. Středně velcí jedinci byli procentuálně nejvíce zastoupení v 1. skupině (zahájení krmení 72 hPF). Nejnižší procentuální zastoupení středně velkých jedinců bylo zaznamenáno ve 27. skupině (zahájení krmení 228 hPF).



Graf č. 6: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrné procentuální zastoupení malých jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena lineární funkcí na základě metody nejmenších čtverců ($y = 0,2333x + 5,1342$; $R^2 = 0,5366$).



Graf č. 7: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrné procentuální zastoupení velkých jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomickou funkcí ($y = -0,001x^2 + 0,2563x - 4,1917$; $R^2 = 0,5360$).



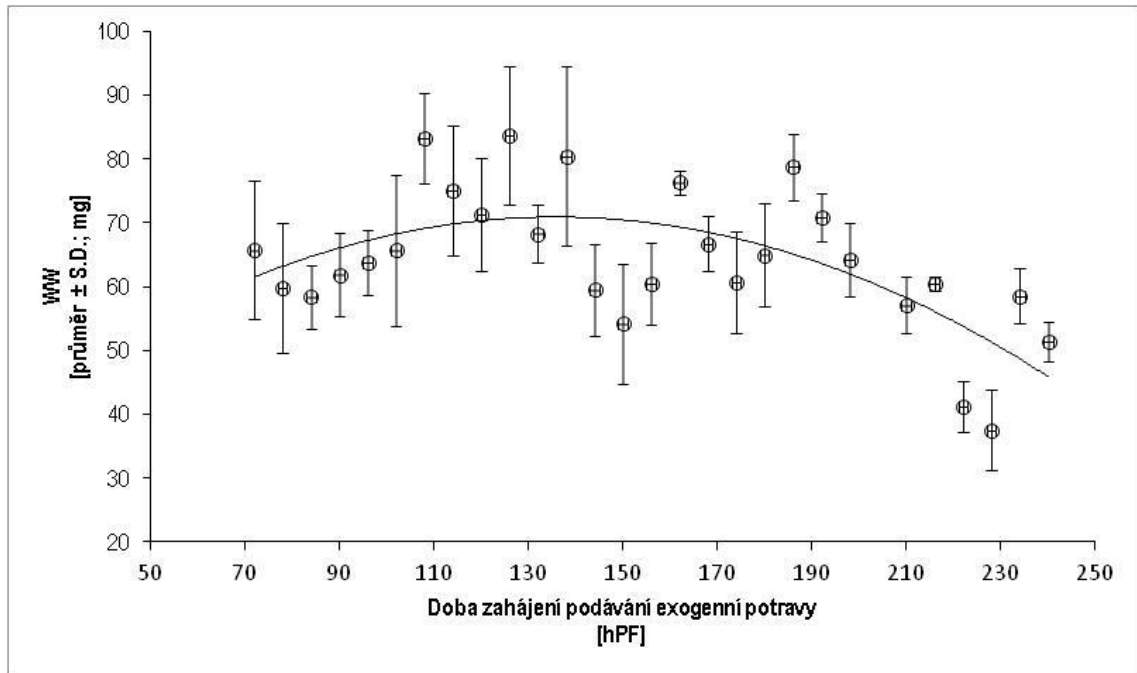
Graf č. 8: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrné procentuální zastoupení středně velkých jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena lineární funkcí na základě metody nejmenších čtverců ($y = -0,1679x + 87,004$; $R^2 = 0,428$).

5.7 Vliv zahájení podávání vnější potravy na hmotnost

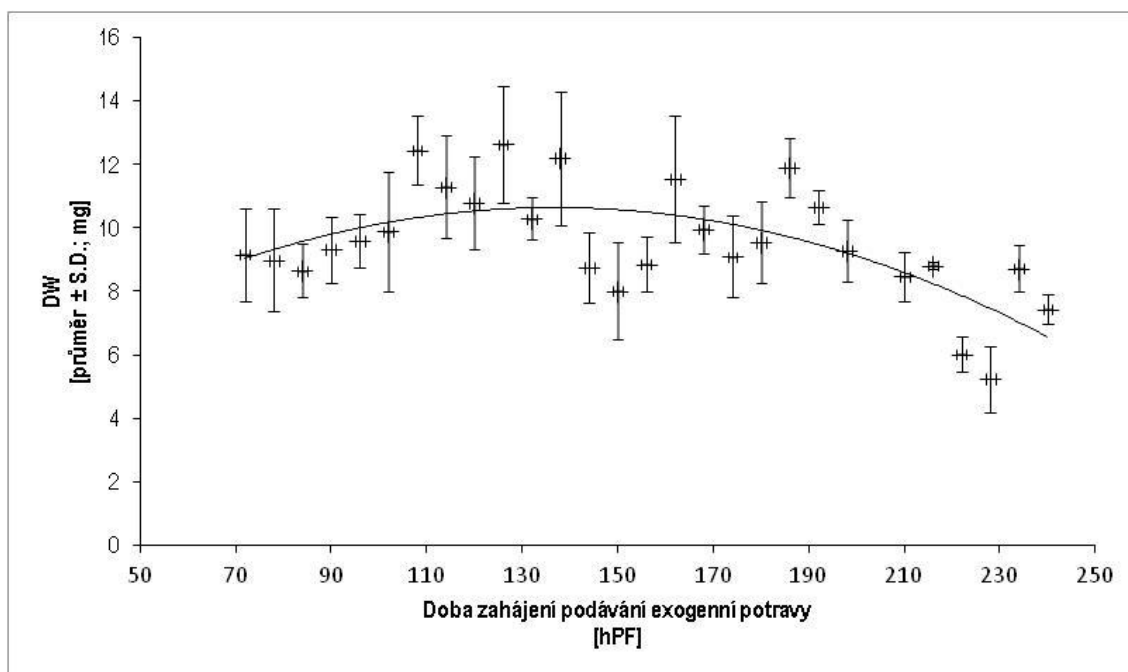
Provedením statistické analýzy (jednocestná analýza variance) na konci pokusu (30. den krmení) bylo prokázáno, že doba zahájení podávání vnější potravy statisticky průkazně ($P < 0,01$) ovlivnila průměrnou mokrou hmotnost (WW) [$F_{(28,99)} = 7,1188$; $p < 10^{-6}$](Graf č. 9) i průměrnou suchou hmotnost (DW) [$F_{(28,99)} = 7,0047$; $p < 10^{-6}$](Graf č. 10) larev keříčkovce. Závislost průměrné mokré hmotnosti byla proložena polynomicou křivkou, jejíž hodnota spolehlivosti (R^2) vysvětluje 42,01 % z variability získaných dat průměrné mokré hmotnosti. Rozpětí průměrné mokré hmotnosti jednotlivých skupin bylo od $37,52 \pm 6,35$ mg (průměr \pm S. D.) (27. skupina, zahájení krmení 228 hPF) do $83,69 \pm 10,88$ mg (10. skupina, zahájení krmení 126 hPF).

I v případě průměrné suché hmotnosti (DW) byla data proložena polynomicou křivkou. Hodnota spolehlivosti této křivky vysvětluje 43,72 % z variability dat průměrné DW jednotlivých skupin. Průměrná suchá váha (DW) byla v rámci

jednotlivých skupin stanovena v rozmezí od $5,24 \pm 1,04$ mg (27. skupina, zahájení krmení 228 hPF) do $12,63 \pm 1,84$ mg (10. skupina, zahájení krmení 126 hPF).



Graf č. 9: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou mokrou hmotnost (WW) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomickou funkcí ($y = -0,0023x^2 + 0,6268x + 28,328$; $R^2 = 0,4201$).



Graf č. 10: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou suchou hmotnost (DW) jedinců keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena polynomickou funkcí ($y = -0,0004x^2 + 0,1046x + 3,4784$; $R^2 = 0,4201$).

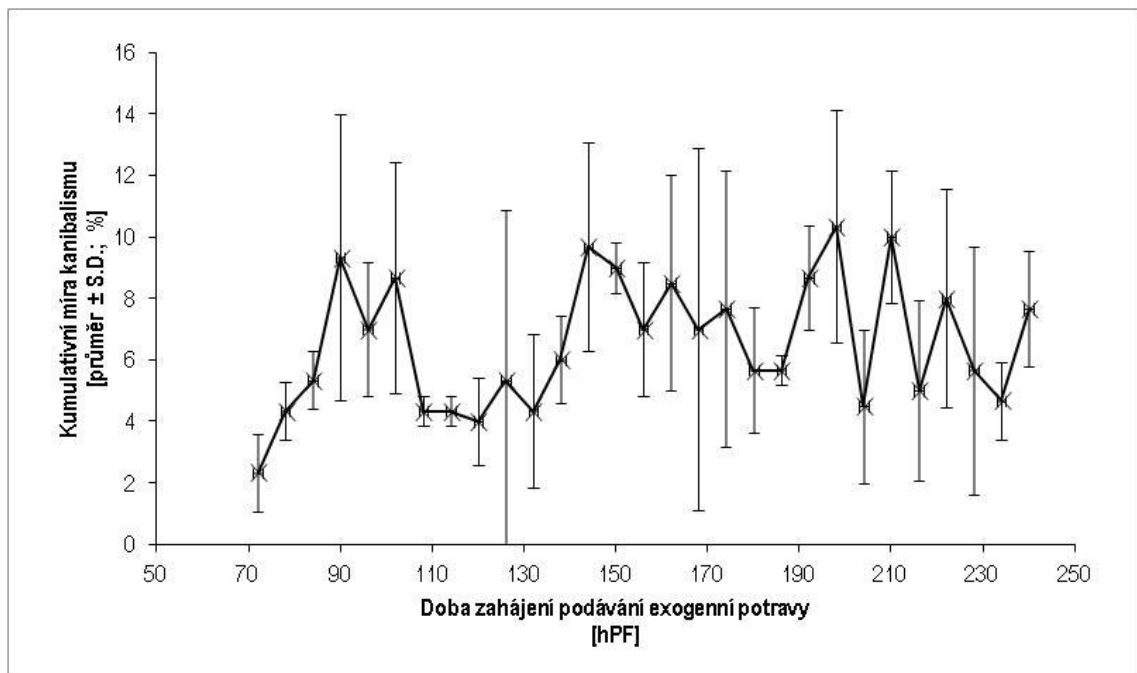
5.8 Vliv zahájení podávání vnější potravy na míru kanibalismu a přežívání

Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy na průměrnou kumulativní míru kanibalismu v jednotlivých skupinách na konci pokusu byl na základě statistické analýzy neprůkazný [$F_{(28,56)} = 1,0462$; $p = 0,430096$] (Graf č. 11). Nejnižší průměrná kumulativní míra kanibalismu na konci pokusu byla zaznamenána ve skupině poprvé krmené ve věku 72 hPF. Kanibalismus byl poprvé zaznamenán již při 1. přelovení (168 hPF) ve všech skupinách kromě skupin poprvé krmených 84, 96 – 132, 168 a 180 hPF. Od 1. přelovení (168 hPF) do 2. přelovení (288 hPF) byl už kanibalismus zaznamenán ve všech skupinách kromě skupiny poprvé krmené ve stáří 126 hPF, avšak při 3. přelovení (408 hPF) byl kanibalismus potvrzen i v této skupině. Průměrná míra kanibalismu v hladové kontrole byla určena na $0,67 \pm 0,47$ % (průměr \pm S. D.) (1. přelovení – 168 hPF) a $1,93 \pm 1,89$ % (2. přelovení – 288 hPF).

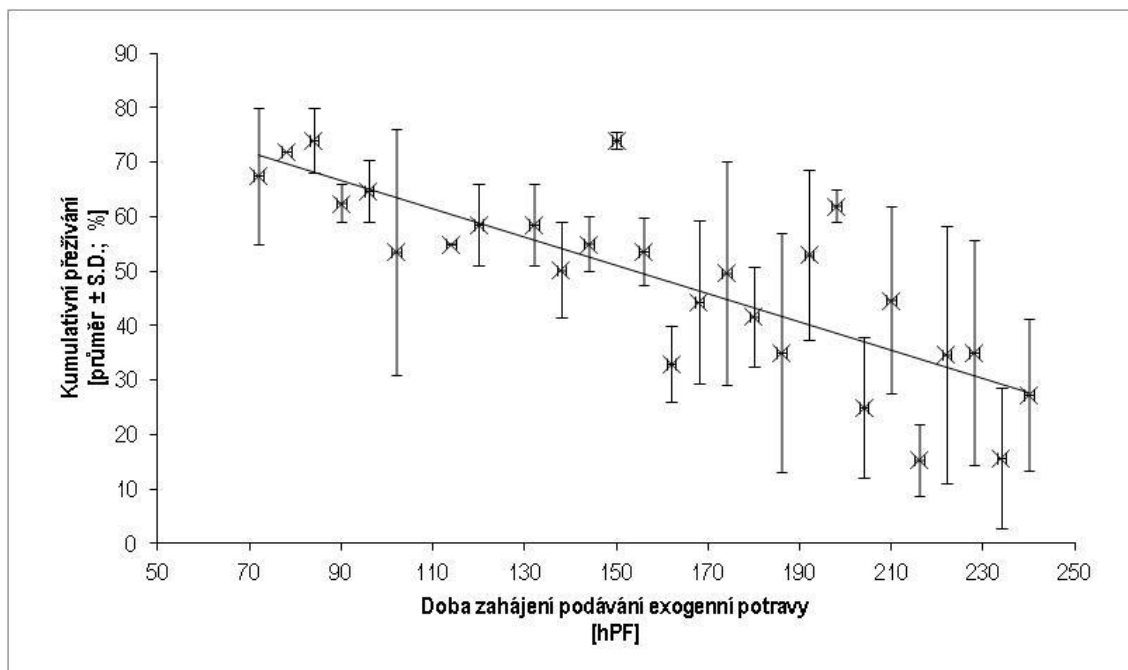
Na základě provedené statistické analýzy [$F_{(28,48)} = 3,302$; $p = 0,00016$] bylo průměrné kumulativní přežívání v jednotlivých skupinách při ukončení pokusu signifikantně ovlivněno časovým intervalem zahájení podávání vnější potravy. Dle

zjištěných dat byl trend vlivu zahájení podávání exogenní potravy na přežívání definován lineární funkcí (Graf č. 12). Je zde patrný pokles průměrného kumulativního přežívání s prodlužující se dobou zahájení krmení larev.

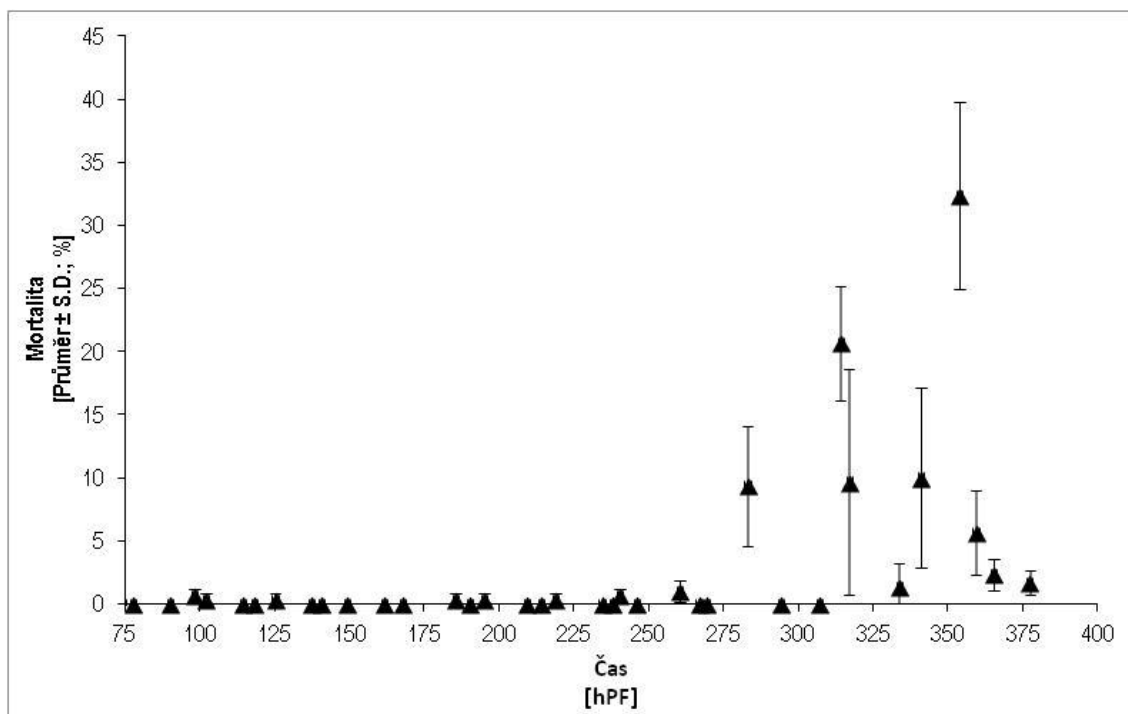
Kumulativní mortalita v hladové kontrole byla v průměru $1,33 \pm 1,25$ % (1. přelovení – 168 hPF) a $13,33 \pm 6,60$ % (2. přelovení – 288 hPF). K úhynu všech jedinců v hladové kontrole, kterým v průběhu celého pokusu nebyla předkládána exogenní potrava, došlo ve stáří 377,4 hPF. První zřetelné zvýšení mortality v kontrole bylo zaznamenáno 283,1 hPF. Průběh mortality v hladové kontrole je patrný na grafu č. 13, zatímco kumulativní mortalita v hladové kontrole je zobrazena na grafu č. 14.



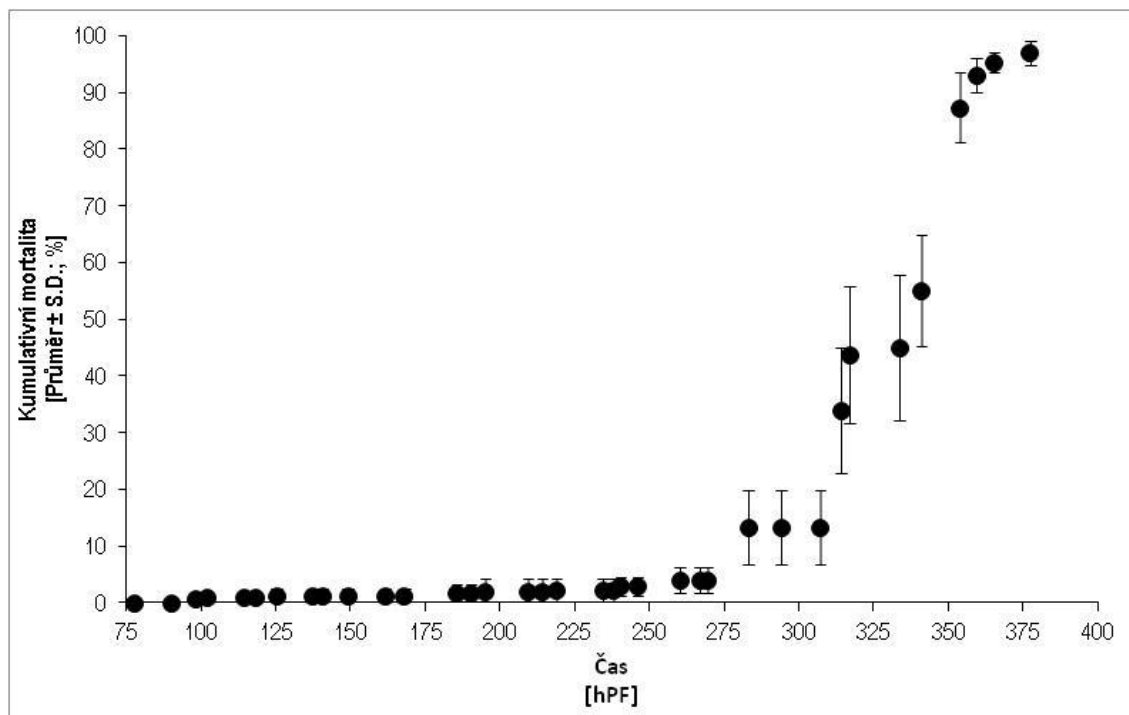
Graf č. 11: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrnou kumulativní míru kanibalismu [%] larev keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu.



Graf č. 12: Vliv doby zahájení podávání exogenní potravy [hPF] na průměrné kumulativní přežívání [%] larev keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při ukončení pokusu (30. den krmení) v jednotlivých skupinách (poprvé krmených 72 – 240 hPF) v 2. experimentu. Data byla proložena lineární funkcí na základě metody nejmenších čtverců ($y = -0,2597x + 89,988$; $R^2 = 0,6467$).



Graf č. 13: Průměrná mortalita keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) v hladové kontrole (30. skupina) během 2. experimentu.



Graf č. 14: Průměrná kumulativní mortalita keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) v hladové kontrole (30. skupina) během 2. experimentu.

6. DISKUZE

Diskuze je členěna na základě stanovených cílů této bakalářské práce a posloupnosti zkoumaných parametrů, které pomohly jednotlivé cíle vytýčit. Samotný pokus probíhal ve dvou po sobě jdoucích experimentech. Výsledky získané z těchto experimentů byly srovnávány s doposud zjištěnými poznatky o vlivu teploty na nástup jednotlivých klíčových úseků v rané ontogenezi keříčkovce jihoafrického. Další diskutovaný aspekt představovaly změny v průběhu ontogeneze keříčkovce jihoafrického způsobené opožděním zahájení podávání vnější potravy. Tyto změny byly následně porovnávány a staly se určujícím faktorem ke stanovení optimálního času zahájení krmení a určení a popisu efektu PNR (*point of no return*) v rámci raného ontogenetického vývoje keříčkovce.

6.1 Plodnost

Stanovení plodnosti má zásadní význam při umělé reprodukci ryb. V této BP byla hodnocena pracovní relativní a pracovní absolutní plodnost, dále pak relativní plodnost.

Eyo a Mgbenka (1992) a Egwui a kol. (2007) uvádějí vzestup absolutní plodnosti se stoupající hmotností samic keříčkovce jihoafrického. Obě jmenované práce se zabývaly výzkumem samic, jejichž hmotnost nepřesahovala 500 g. V této bakalářské práci proběhlo hodnocení plodnosti u vzorku šesti samic, jejichž celková individuální hmotnost se však pohybovala od 2010 do 2623 g (průměr \pm S. D.: 2399 ± 229 g). Na rozdíl od Eyo a Mgbenka (1992) a Egwui a kol. (2007) se v této BP v případě pracovní absolutní plodnosti, pracovní relativní plodnosti a relativní plodnosti naměřily nejlepší výsledky u samic s nižší hmotností v rámci uváděného hmotnostního rozmezí. Z těchto zjištění vyplynulo, že plodnost keříčkovce jihoafrického s hmotností rostla, avšak zřejmě pouze do určité dosažené hmotnosti samic.

Průměrnou mokrou hmotnost jedné jikry keříčkovce jihoafrického stanovili Kamler a kol. (1994) na 1,459 mg. Podobného výsledku 1,02 až 1,51 mg dosáhla ve své magisterské práci i Prokešová (2012). V tomto pokusu byla hmotnost jedné jikry vytyčena ve srovnatelném rozmezí od 1,30 do 1,48 mg ($1,36 \pm 0,06$ mg).

Stanovení plodnosti a hmotnosti jedné jikry nebylo jedním z původních vytyčených cílů BP, avšak i data získaná z pozorovaného vzorku samic keříčkovce jihoafrického mají svou vypovídající hodnotu.

6.2 Vliv teploty na časový průběh rané ontogeneze

Problematikou nástupu jednotlivých klíčových úseků v ontogenezi keříčkovce jihoafrického při různých teplotách se zabývali Kamler a kol. (1994), Haylor a Mollah (1995), Prokešová (2012) a popisují ji i Kouřil a kol. (2013). Ve svých pracích potvrdili zkracování časového intervalu mezi jednotlivými klíčovými úseky v rané ontogenezi se stoupající teplotou. Například Haylor a Mollah (1995) uvádějí délku intervalu od oplození jiker po strávení žloutkového váčku za 6,49 dne při teplotě 20 °C. Při zvýšení teploty na 35 °C se celý interval zkracoval na 1,74 dne. Avšak při zvýšení i snížení teploty mimo teplotní valenci stanovenou pro jednotlivá ontogenetická stádia byl prokázán úhyn těchto stádií. V této bakalářské práci se ontogenetický vývoj keříčkovce jihoafrického v obou experimentech hodnotil při teplotě 24 °C. Inkubační doba (F – H₉₅) byla stanovena na 33,4 hPF (1. experiment) a 35,5 hPF (2. experiment). Získané údaje délky inkubační doby byly srovnatelné s výsledky 32,9 hPF (Haylor a Mollah, 1995) nebo 34,33 hPF (stanovené pro H₅₀) (Prokešová, 2012) pro teplotu 24 °C. V rámci ontogeneze bylo u čerstvě vykulených eleuterembryí také patrné budoucí vnitřní ucho ve formě váčku s otolity (Příloha č. 9). Zformování tohoto útvaru u právě vykulených eleuterembryí keříčkovce jihoafrického popisuje už Osman a kol. (2008). První známky pigmentace na těle byly zjištěny ve stáří 53,3 hPF. Zcela pigmentované oko bylo zaznamenáno 74,4 hPF (Příloha č. 10).

Oproti délce inkubační doby, jejíž časový interval se pro danou teplotu významně nelišil, se determinace nástupu úseku zahájení příjmu exogenní potravy (S) a úseku strávení žloutkového váčku (Re), napříč výsledky několika prací, značně rozcházela. Kouřil a kol. (2013) uvádějí nástup zahájení příjmu exogenní výživy 40 – 80 hodin po vykulení, při teplotním rozpětí 23 – 30 °C. Dále pak při teplotě 25 °C zaznamenali následné strávení žloutkového váčku 96 hodin od vykulení. Zatímco Haylor a Mollah (1995) opět při teplotě 24 °C, uvádějí zahájení příjmu exogenní potravy 66,48 hPF a následné strávení žloutkového váčku ve věku 90,24 hPF. Výsledky této BP se blíží záznamům Kouřila a kol. (2013). Korespondují také s údajem 164 hPF věk, ve kterém Osman a kol. (2008) pozorovali strávení žloutkového váčku u keříčkovce jihoafrického také při teplotě 24 °C. Na základě výše uvedených poznatků je patrné, že teplota měla významný vliv na délku intervalu mezi nástupy jednotlivých klíčových úseků. Do nástupu zahájení příjmu exogenní výživy a strávení žloutkového váčku ale vstupují, vzhledem k odchylkám mezi jednotlivými vědeckými pracemi, i další faktory. Jako

například výběr generačních ryb a s ním do jisté míry související velikost vytřených jiker. U pstruha obecného byla potvrzena vyšší míra růstu a s tím spojené zkrácení času pro dosažení jednotlivých ontogenetických stádií u jedinců vykulených z větších jiker (Ojanguren a kol., 1996). Zatímco vliv velikosti jiker na dobu zahájení příjmu exogenní potravy u tlamouna mosambického vyloučila Rana (1985), vzhledem ke stoupajícímu objemu žloutkového vřívku se stoupající velikostí jikry (Prokešová, 2012) lze usuzovat, že doba strávení žloutkového vřívku by mohla být tímto faktorem ovlivněna.

6.3 Průběh morfometrických a gravimetrických parametrů v klíčových úsecích rané ontogeneze

V časovém intervalu od vykolení po strávení žloutkového vřívku byl zaznamenán nejvyšší nárůst morfometrických parametrů (v 1. i 2. experimentu). Růst eleuterembryí do zahájení příjmu exogenní potravy byl patrný nejvíce na celkové délce těla (TL) a délce těla (SL). Naopak preanální vzdálenost (PAL) vzrostla během této periody ($H_{95} - S_{95}$) pouze mírně. Z výše uvedeného vyplývá, že docházelo především k nárůstu kaudální části těla, jejíž vývoj je důležitý pro rozplavání eleuterembryí. Plavání eleuterembryí a vyhledávání potravy před zahájením příjmu exogenní potravy bylo popsáno i u následujících druhů – keříčkovce dvoupásý a labeo avanské *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) (Mookerji a Ramakrishna Rao, 1999). Ve stejném období se zvýšením TL a SL korespondovalo i zvýšení mokré váhy. V úseku od $S_{95} - Re_{95}$ došlo k útlumu růstu. Tato skutečnost se promítla ve všech třech morfometrických parametrech (TL, SL i PAL) a mokré hmotnosti, které se od zahájení příjmu exogenní potravy téměř neměnily. Podobný průběh u celkové délky těla a mokré hmotnosti v úseku od vykolení po strávení žloutkového vřívku popisují u keříčkovce jihoafrického i Kouřil a kol. (2013). Ke zvýšenému růstu od vykolení docházelo v důsledku vysoké intenzity resorpce žloutkového vřívku, která byla, jak popisují i Siroi a kol. (1998) u trahira saopaulského, nejvyšší po vykolení eleuterembryí. Energie z absorpce žloutkového vřívku byla do zahájení příjmu exogenní potravy investována především do růstu. Tomu odpovídaly i hodnoty suché hmotnosti při H_{95} a S_{95} , které se od sebe téměř nelišily. Po zahájení příjmu exogenní potravy byl objem žloutkového vřívku pouze $0,09 \pm 0,02 \mu\text{m}^3$ (1. experiment) a $0,06 \pm 0,03 \mu\text{m}^3$ (2. experiment). Z tohoto důvodu od zahájení příjmu exogenní potravy došlo k zastavení růstu. Hodnoty suché hmotnosti od vykolení eleuterembryí mírně klesaly až do úplného strávení žloutkového vřívku oproti hodnotám

mokrě hmotnosti hlavně v intervalu $H_{95} - S_{95}$. Pokles suché hmotnosti korespondoval i s tvrzením Peňáze (2000), který uvádí během embryonální periody vzrůstání celkové hmotnosti oproti poklesu sušiny zárodku. Zbylá energie při S_{95} byla zřejmě využita především k pohybu a snaze nalézt potravu. Pokles suché hmotnosti, zastavení vzrůstu mokrě hmotnosti a morfometrických údajů od zahájení příjmu exogenní potravy do resorpce žloutkového váčku nekrmenými larvami, může být považován za první známky projevu hladovění u larev. Potvrzují to i výsledky Prokešové (2012), která uvádí výrazně vyšší délku a hmotnost krmených larev při strávení žloutkového váčku než u larev nekrmených. Avšak vzhledem k níže popsanému negativnímu vlivu hladovění na morfometrické parametry (viz kapitola 6.4 Vliv načasování zahájení podávání exogenní potravy) nebyly tyto změny v úseku $S_{95} - R_{e95}$ nevratné. Mírně vyšší morfometrické hodnoty v 1. experimentu lze vysvětlit téměř dvojnásobným průměrným objemem žloutkového váčku vykulených eleuterembryí.

6.4 Vliv načasování zahájení podávání exogenní potravy

Hlavním cílem zaměření se na aspekt načasování zahájení podávání vnější potravy bylo vysledovat vliv opoždění začátku podávání exogenní potravy, nalezení a popsání PNR a stanovení optimálního času pro zahájení krmení během kultivace larev keříčkovce jihoafrického. Na základě získaných dat lze říci, že opoždění zahájení krmení larev exogenní potravou způsobilo hladovění larev především po přechodu na mixogenní výživu. Pokud larvám nebyla předkládána exogenní potrava do stáří 216 hPF, projevem hladovění bylo signifikantní snížení morfometrických parametrů (TL, SL a PAL). U gravimetrických parametrů nebylo zaznamenáno statisticky průkazné snížení, přestože trend byl podobný jako u morfometrických údajů. Snížení morfometrických parametrů i hmotnosti larev bylo popsáno i u jiných druhů ryb – např. keříčkovce dvoupásý, *labeo avanské* (Mookerji a Ramakrishna Rao, 1999), *Paralichthys californicus* (Ayres, 1859) (Gisbert a kol., 2004) a *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868) (Peña a Dumas, 2005). Navíc u druhů kulter černoocasý (*Ancherythroculter nigrocauda*, Yih & Wu, 1964) (Xiong a kol., 2006) a *Siniperca scherzeri* (Zhang a kol., 2009) autoři popisují dokonce zkracování celkové délky těla v důsledku hladovění. Při srovnání larev poprvé nakrmených ve stáří 72 hPF a larev z kontrolní (hladové) skupiny, dosahovaly krmené larvy ve srovnání s hladovějícími larvami vyššího stupně ontogenetického vývoje (Příloha č. 11)

Zkoumán byl i vliv délky hladovění na velikostní rozložení ve skupinách na konci pokusu. Je nutné podotknout, že tímto jevem se zabývali Adamek a kol. (2011). Ti však zkoumali vliv různě starých samic na velikostní variabilitu potomstva. V této BP se hmotnost samic v samotném 2. experimentu pohybovala v rozmezí od 2515 do 2658 g ($2610,25 \pm 78,53$ g) a průměrný objem žloutkového vajíčka byl $0,94 \pm 0,24 \mu\text{m}^3$. Vzhledem k těmto hodnotám, které se mezi samicemi jen mírně lišily, lze s velkou pravděpodobností vyloučit maternální vliv na velikostní rozložení larev na konci pokusu. Zastoupení středně velkých a velkých jedinců klesalo s prodlužující se délkou hladovění. Průměrné zastoupení velkých jedinců dokonce kleslo na nulu ve všech skupinách, kterým byla poprvé předkládána exogenní potrava po dosažení věku 216 hPF. Naopak nejvyšší zastoupení velkých jedinců bylo pozorováno u skupin poprvé nakrmených v době, kdy jedinci zahajují příjem exogenní potravy (stáří cca 115 hPF) a stávají se tak larvami. Se snižováním frekvence výskytu jedinců patřících do předešlých dvou kategorií naopak stoupalo procentuální zastoupení malých jedinců. I přes různé velké procentuální zastoupení velkých jedinců v rámci jednotlivých skupin, kteří se v rybářské praxi běžně považují za potencionální kanibaly, se míra kanibalismu mezi skupinami významně nelišila. Kanibalismus byl zaznamenán i ve skupinách, kde bylo zastoupení velkých jedinců prakticky nulové. Zatímco závislost míry kanibalismu na velikostní variabilitu popisují Baras a d'Almeida (2001) a Adamek a kol. (2011), v rámci předložené BP tato skutečnost nebyla prokázána. Z toho vyplývá, že ve skupinách během celého pokusu probíhal zřejmě kanibalismus I. typu, který není závislý na velikostním rozdílu larev (Hecht a Appelbaum, 1988).

Kanibalismus byl ve skupinách poprvé zaznamenán už při 1. přelovení ve stáří 168 hPF (cca 5,5 dne po vykulení; cca dva dny po zahájení příjmu exogenní potravy). Avšak nelze vyloučit možnost, že kanibalismus mohl probíhat ještě před tímto okamžikem. Vzhledem k obtížnému vypořádání a závislosti na více faktorech se záznamy o zahájení kanibalismu u keříčkovce jihoafrického značně liší. Například Hecht a Appelbaum (1988) uvádějí jeho existenci u larev keříčkovce od velikosti 8 mm a stáří 3,5 dne od zahájení příjmu exogenní potravy. Zatímco Baras a d'Almeida (2001) poprvé zaznamenali kanibalismus u larev ve věku 4,5 dne od vykulení. Z hlediska míry celkové pozorované mortality je důležitou skutečností to, že míra kanibalismu v rámci experimentů podniknutých v předložené BP nebyla signifikantně ovlivněna délkou hladovění larev. Změny/rozdíly v míře celkové mortality mezi skupinami sumarizované

na konci pokusu jsou tak pravděpodobně výsledkem vlivu pouze délky hladovění larev, tj. jsou ovlivněny okamžikem načasování začátku podávání vnější potravy.

Jedním z cílů této práce bylo popsat a časově determinovat bod PNR (*point of no return*). Tento bod Blaxter a Hampel (1963) definují jako čas, kdy 50 % larev nepřijímá předkládanou potravu a hyne. Na základě této definice však není přesně určeno, zda 50 % jedinců přijímajících potravu ji dokáže nejen přijmout, ale i vstřebat. U některých druhů ryb tak larvy krmené ještě před nástupem PNR stejně později umírají. Příkladem je *Paralichthys californicus* (Gisbert a kol., 2004), *Paralabrax maculatofasciatus* (Peña a Dumas, 2005) a *Siniperca scherzeri* (Zhang a kol., 2009). Naopak náhlý nárůst mortality až po nástupu PNR, byl pozorován u keříčkovce dvoupásého, labea avanského (Mookerji a Ramakrishna Rao, 1999), kultera černoocasého Xiong a kol., 2006) a u druhu *Oplegnathus fasciatus* Kroyer, 1845 (Shan a kol., 2008). V tomto experimentu přežívání keříčkovce jihoafrického klesalo v závislosti na prodlužující se délce intervalu hladovění. Ovšem v trendu poklesu přežívání nebyl zaznamenán statisticky významný zlom poukazující na nástup PNR. Tento zlom byl však patrný pro mortalitu v kontrolní (hladové) skupině, která nebyla po celou dobu pokusu krmena. Průměrná kumulativní mortalita dosahovala v této skupině pouze $4,00 \pm 2,16$ % do stáří 269,5 hPF. Avšak již ve stáří 283,1 hPF došlo k významnému navýšení průměrné kumulativní mortality na hodnoty $13,33 \pm 6,6$ %. Průměrná kumulativní mortalita v kontrolní skupině dále vzrůstala až do věku 377,4 hPF, kdy dosáhla téměř 100 %. Pokud se tedy nástup PNR u keříčkovce jihoafrického projevuje stejně jako u jeho evolučně příbuzného keříčkovce dvoupásého, pak larvy keříčkovce mohly PNR dosáhnout před zvýšením mortality v kontrolní skupině při teplotě 24 °C tedy ve stáří okolo 269,5 hPF (cca 6 dnů po přechodu na exogenní potravu, respektive cca 10 dnů od vykulení). Toto zjištění by do jisté míry odpovídalo i výsledkům práce Haylora a Mollaha (1995), kteří stanovili nástup PNR u keříčkovce ve stáří 7,5 – 8,5 dnů po zahájení příjmu egogenní potravy při teplotách pohybujících se v rámci rozmezí 20 – 30 °C. Mookerji a Ramakrishna Rao (1999) zaznamenali PNR u keříčkovce dvoupásého ve stáří 8 dní po vykulení.

7. ZÁVĚR

- Data o časovém nástupu jednotlivých klíčových momentů a vývojových etap v rané ontogenezi (H_{95} , S_{95} , Re_{95}), získaná pro keříčkovce jihoafrického v rámci BP odpovídala výsledkům, které byly dosaženy i dalšími autory. Mírné rozdíly byly nalezeny pouze v případě časové determinace okamžiku stravení žloutkového váčku.
- V úseku H_{95} až S_{95} byla zaznamenána nejvyšší míra růstu a to především kaudální části těla larev. V tomto intervalu také vzrůstala mokrá hmotnost v kontrastu se stagnující suchou hmotností larev. Průběh suché hmotnosti korespondoval s vysokou intenzitou absorpce žloutkového váčku od H_{95} do S_{95} .
- Od S_{95} do Re_{95} došlo u nekrmených larev k zastavení růstu. Jednalo se o první projev hladovění, který však v této době nebyl ještě nevratný.
- Načasování zahájení krmení (podávání vnější potravy) signifikantně ovlivnilo délkové i hmotnostní parametry, velikostní rozložení a přežívání v jednotlivých skupinách na konci pokusu (30. den krmení). S prodlužující se dobou absence exogenní potravy klesalo procentuální zastoupení velkých a středně velkých jedinců. Naopak zastoupení malých jedinců v jednotlivých skupinách stoupalo.
- Míra kanibalismu se ukázala jako parametr nezávislý na načasování začátku podávání vnější potravy.
- Z hlediska míry přežívání je vhodné u keříčkovce jihoafrického neodkládat zahájení krmení. Z hlediska růstu lze zpozdit zahájení krmení až do dosažení stáří 216 hPF a to bez výrazného ovlivnění (snížení) sledovaných morfometrických ukazatelů. Pokud však larvy nejsou krmeny po dovršení tohoto věku, průměrné procentuální zastoupení velkých jedinců ve skupině klesá až na nulu.
- „Bod odkud už není návratu“ (*point of no return*) se u zkoumaného druhu projevil přibližně v průběhu dvanáctého dne od oplození (269 hPF). Krátce po jeho nástupu došlo k náhlému zvýšení mortality v kontrolní (hladově) skupině. Míra kumulativní mortality ve zmiňované skupině dosáhla téměř 100 % zhruba 100 hodin po nástupu PNR.

8. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Adamek, J., Kamler, E., Epler, P. 2011. Uniform maternal age/size and light restrictions mitigate cannibalism in *Clarias gariepinus* larvae and juveniles reared under production-like controlled conditions. *Aquacultural Engineering*, 45: 13-19.
- Adámek, Z., Helešič, J., Maršálek, B., Rulík, M. 2010. Aplikovaná hydrobiologie. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Vodňany, 350 s.
- Adewolu, M. A., Adeniji, C. A., Adejobi, A. B. 2008. Feed utilization, growth and survival of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) fingerlings cultured under different photoperiods. *Aquaculture*, 283: 64-67.
- Appelbaum, S., Kamler, E. 2000. Survival, growth, metabolism and behaviour of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) early stages under different light conditions. *Aquacultural Engineering*, 22: 269-287.
- Baras, É., d'Almeida, A. F. 2001. Size heterogeneity prevails over kinship in sharpening cannibalism among larvae of sharptooth catfish *Clarias gariepinus*. *Aquatic Living Resources*, 14: 251-256.
- Baruš, V., Oliva, O., Baradlaiová, M. 1995. Mihulovci a ryby 1. díl. Academia. Praha, 624 s.
- Blaxter, J. H. S., Hempel, G. 1963. The influence the egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, 28: 211-240.
- Conceição, L. E. C., Derjant-Li, Y., Verreth, J. A. J. 1998. Cost of growth in larval and juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption. *Aquaculture*, 161: 95-106.
- Dubský, K., Šrámek, V., Kouřil, J. 2003. Obecné rybářství. Informatorium. Praha, 308 s.
- Egwui, P. C., Mgbenka, B. O., Nwuba, L. A. 2007. Aspects of reproductive biology of hatchery-raised *Clarias gariepinus* I: Fecundity. *Animal Research International*, 4: 733-736.
- Eyo, J. E., Mgbenka, B. O. 1992. Aspects of the biology of *Clarias gariepinus* in Anambra river basin. 1. oocyty diameter, fecundity and sex ratio. *Journal of Agriculture, Science and Technology*, 2: 47-51.

- Folkvord, A. 1997. Ontogeny of cannibalism in larval and juvenile fishes with special emphasis on Atlantic cod. Chapman and Hall Fish and Fisheries Series, 21: 251 – 278.
- Fridman, S., Bron, J., Rana, K. 2012. Influence of salinity on embryogenesis, survival, growth and oxygen consumption in embryos and yolk-sac larvae of the Nile tilapia. *Aquaculture*, 334-337: 182–190.
- Gaisler, J., Zima, J. 2007. *Zoologie obratlovců*. Nakladatelství Academia. 2. vydání. Praha, 692 s.
- Gisbert, E., Conklin, D. B., Piedrahita, R. H. 2004. Effect of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *Journal of Fish Biology*, 64: 116-132.
- Haylor, G. S., Mollah, M. F. A. 1995. Controlled hatchery production of African catfish, *Clarias gariepinus*: the influence of temperature on early development. *Aquatic Living Resources*, 8: 431 – 438.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Masár, J., Turanský, R. 2007. Technologie Chovu keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrologický ve Vodňanech. Vodňany, 19 s.
- Hanel, L. 1997. Klíč k určování ryb a mihulí. 1. vydání, EkoCentrum Brno, 85 s.
- Hanel, L., Novák, J. 2004. České názvy živočichů V. Ryby a rybovití obratlovci (Pisces) 4: Paprskoploutví (Actinopterygii) – Kostnatí (Neopterygii) – Trnobříši (Characiformes) – Nahohřbetí (Gymnotiformes). Národní muzeum (zoologické oddělení). Praha, 172 s.
- Hecht, T., Appelbaum, S. 1988. Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *Clarias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. *Journal of Zoology*, 214: 21-44.
- Hecht, T., Uys, W., Britz, P. J. 1988. The Culture of sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* in Southern Africa. South African National Scientific Programmes. Report No. 153, 133 pp.
- Hossain, M. A. R., Beveridge, M. C. M., Haylor, G. S. 1998. The effects of density, light and shelter on the growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fingerlings. *Aquaculture*, 160: 251-258.

- Chai, Y., Xie, C., Wei, Q. W. 2011. Yolk-sac absorption and point of no return in Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 27: 687-689.
- Jeuthe, H., Brännäs, E., Nilsson, J. 2013. Effects of egg size, maternal age and temperature on egg, viability of farmed Arctic charr. *Aquaculture*, 408-409: 70-77.
- Jubb, R. 1967. *Freshwater fishes of Southern Africa*. Balkema, Cape Town, 248 s.
- Kamler, E. 1992. *Early life history of fish: An energetics approach*. Fish and Fisheries Series. 4, Chapman & Hall, Londýn, Velká Británie, 267 s.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Fish Biology and Fisheries*, 12: 79-103.
- Kamler, E., Slamińska, M., Kuczyński, M., Hamáčková, J., Kouřil, J., Dabrowski, R. 1994. Temperature-induced changes of early development and yolk utilization in the African catfish *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 44: 311-326.
- Kennedy, J., Geffen, A. J., Nash, R. D. M. 2007. Maternal influences on egg and larval characteristics of plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Journal of Sea Research*, 58: 65-77.
- Kouřil, J., Drozd, B., Prokešová, M., Stejskal, V. 2013. Intenzivní chov keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Vodňany, 60 s.
- Kůrka, R., Prokeš, M., Baruš, V. (2000): Biometrical characteristics of *Clarias gariepinus*, aquaculture reared in the Czech Republic. In: Mikešová, J. (ed): *Sborník referátů ze IV. České ichtyologické konference, JU v ČB VÚRH ve Vodňanech*. Vodňany, s. 131-135.
- Lašťůvka, Z., Gaisler, J., Šťastná, P., Pelikán, J. 2004. *Zoologie pro zemědělské obory a lesníky*. KONVOJ, spol. s. r. o. Brno, 264 s.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J. 1983. *Ryby v našich vodách*. Academia, nakladatelství ČSAV. Praha, 207 s.
- Mahmoud, M. A., Mekkawy A. A. I., Sayed, H. E. A. 2009. Ultraviolet radiation-A (366 nm) induced morphological and histological malformations during embryogenesis of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 95: 117-128.

- Mookerji, N., Ramakrishna Rao, T. 1999. Rates of yolk utilization and effects of delayed initial feeding in the larvae of the freshwater fishes rohu and singl. *Aquaculture International*, 7: 45-56.
- Nchedo, C. A., Chijioke, G. O. 2012. Effect of pH on hatching success and larval survival of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Nature and Science*, 10: 47-52.
- Odum, E. P. 1977. *Základy ekologie*. Academia. Praha, 733 s.
- Ojanguren, A. F., Reyes-Gavilán, F. G., Braña, F. 1996. Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture*, 147: 9-20.
- Osman, A. G. M., Wuertz, S., Mekkawy, I. A., Verreth, J., Kirschbaum, F. 2008. Early development of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), focusing on the ontogeny of selected organs. *Journal of Applied Ichthyology*, 24: 187-195.
- Peña, R., Dumas, S. 2005. Effect of delayed first feeding on development and feeding ability of *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Journal of Fish Biology*, 67: 640-651.
- Peňáz, M. 2000. Towards classification and terminology of early life history stages in fishes (Jak v klasifikaci a terminologii raných vývojových stádií ryb). In: Mikešová, J. (Ed.): *Sborník referátů ze IV. České ichtyologické konference, JU v ČB VÚRH ve Vodňanech*, s. 243-248.
- Pokorný, J., Lucký, Z., Lusk, S., Pohunek, M., Jurák, M., Štědrovský, E., Prášil, O. 2004. *Velký encyklopedický rybářský slovník*. Nákladatelství Fraus. Plzeň, 649 s.
- Prokešová, M. 2012. Vliv teploty vody na průběh rané ontogeneze u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*). České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav akvakultury.
- Rana, J. K. 1985. Influence of egg size on the growth, onset of feeding, point-of-no-return, and survival of unfed *Oreochromis mossambicus* fry. *Aquaculture*, 46: 119-131.
- Saha, N., Kharbuli, Y. Z., Bhattacharjee, A., Goswami, C., Häussinger, D. 2002. Effect of alkalinity (pH 10) on ureogenesis in the air-breathing walking catfish, *Clarias batrachus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 132: 353-364.
- Shan, X., Quan, H., Dou, S. 2008. Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. *Aquaculture*, 277: 14-23.

- Sharaf, S.M. 2012. Effect of GnRHa, pimoziide and Ovaprim on ovulation and plasma sex steroid hormones in African catfish *Clarias gariepinus*. *Theriogenology*, 77: 1709-1716.
- Sirol, R. N., Menin, E., Andrade, D. R., Marinho, A. S. 1998. Larval development of *Hoplias cf. lacerdae* (Pisces: Erythrinidae) and delayed initial feeding effects. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 41: 47-54.
- Stribranyiová, I., Máchová, J., Prokeš, M., Vykusová, B., Svobodová, Z. 1996. Larvální vývoj kapra obecného (*Cyprinus carpio*) při modifikovaném pH prostředí. In: Flajšhans, M. (red.): Sborník vědeckých prací k 75. Výročí založení VÚRH. Výzkumný ústav rybářský a hydrologický Jihočeská univerzita se sídlem ve Vodňanech, s. 67- 75.
- Stoch, D., Mihulka, S. 2000. Úvod do současné ekologie. Nakladatelství Portál, s. r. o.. Praha, 156 s.
- Šlégl, J., Kislinger, F., Laníková, J. 2002. Ekologie a ochrana životního prostředí: pro gymnázia. 1. vydání. Praha: Fortuna, 157 s.
- Verreth, J., Torreelle, E., Spazier, E., Sluiszen, A., Rombout, J., Booms, R., Senger, H. 1992. The development of a functional digestive systém in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of the World Aquaculture Society*, 23: 286 – 298.
- Vetemaa, M., Saat, T. 1996. Effect of salinity on the development of fresh-water and brackish-water ruffe *Gymnocephalus cernuus* (L.) embryos. *Annales Zoollogici Fennici*, 33: 687-691.
- Viveen, W. J. A. R., Richter, C. J. J., Van Oordt, P. G. W. J., Janssen, J. A. L., Huisman, E. A. 1986. Practical manual for the culture of the African catfish (*Clarias gariepinus*). The Netherlands Ministry for Development Cooperation. Section for Research and Technology. Hague, Holandsko, 128 s.
- Xiong, M., Qiao, Y., Rosenthal, H., Que, Y., Chang, J. 2006. Early ontogeny of *Ancherythroculter nigrocauda* and effects of delayed first feeding on larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 502-509.
- Yang, R., Congxin, X., Qixue, F., Gao, Ch., Fang, L. 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture*, 302: 112-123.

- Zhang, L., Wang, Y. J., Hu, M. H., Fan, Q. X., Cheung, S. G., Shin, P. K. S., Li, H., Cao, L. 2009. Effects of the timing of initial feeding on growth and survival of spotted mandarin fish *Siniperca scherzeri* larvae. *Journal of Fish Biology*, 75: 1158-1172.

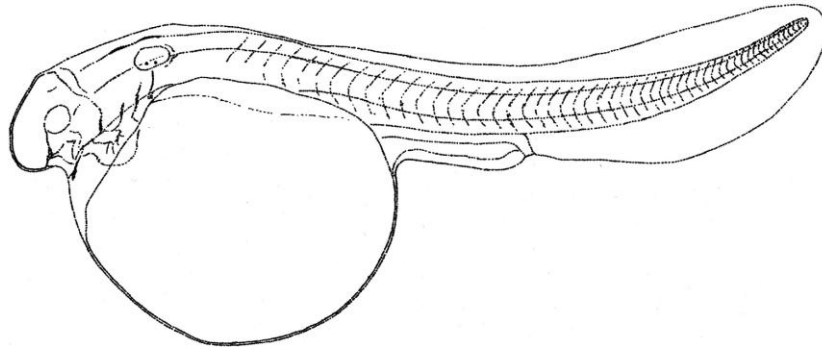
9. SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha č. 1 a 2: Vývojová tabulka (stáří uvedeno v hodinách po oplození, hPF) pro keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při teplotě 24 °C od stádia vykuleného eleuterembrya přes stádium larvy při zahájení příjmu exogenní potravy (S₉₅ – 115,2 hPF) až do dosažení věku 364,8 hPF
- Příloha č. 3: Injikace samice keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) kombinovaným hormonálním přípravkem Ovipel (fa AgroFish, Maďarsko) – do hřbetní svaloviny
- Příloha č. 4: Výtěr samice keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) suchou metodou do misky pomocí masáže břišní partie
- Příloha č. 5: Keříčkovce jihoafrický (*Clarias gariepinus*): A – larva při zahájení příjmu potravy (S₉₅); B – larva při strávení žloutkového váčku (Re₉₅)
- Příloha č. 6: Pokusný systém skládající se z 3 žlabů s odchovnými kádinkami a jedním žlabem se zásobní vodou
- Příloha č. 7: Pro vzdušňované a v lázni temperované kádinky s inkubovanými eleuterembryi a larvami umístěné na roštu v jednom ze žlabů pokusného systému
- Příloha č. 8: Znázornění způsobu měření základních morfometrických parametrů použitých v rámci BP. TL, celková délka těla; SL, délka těla; PAL, preanální vzdálenost; YsL, délka žloutkového váčku; YsD výška (šířka) žloutkového váčku
- Příloha č. 9: Čerstvě vykulené eleuterembryo keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) s detailem otické (sluchové) kapsuly s otolity
- Příloha č. 10: Eleuterembryo keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*): A – stáří 53,3 hPF (první známky pigmentace na těle a v oku); B – stáří 74,4 hPF (zcela pigmentované oko)

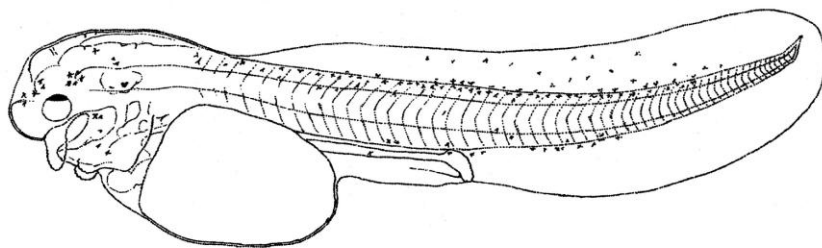
Příloha č. 11: Keříčkovec jihoafrický (*Clarias gariepinus*) ve věku 364,8 hPF. A – larva z kontrolní (hladové) skupiny; B – larva ve stejném věku poprvé krmená 72 hPF

10. PŘÍLOHY

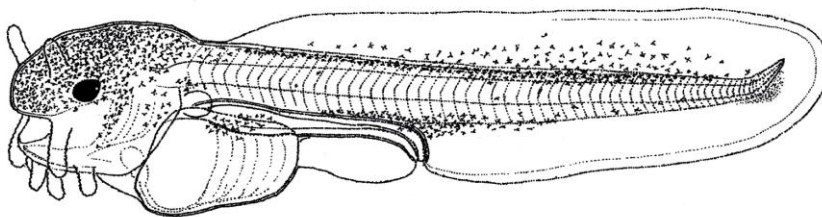
33,4 hPF



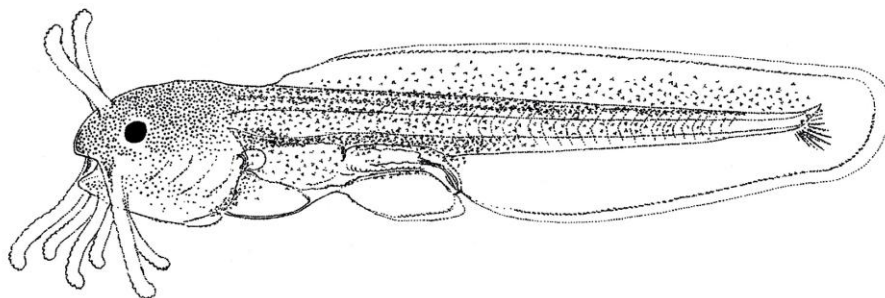
53,3 hPF



74,4 hPF

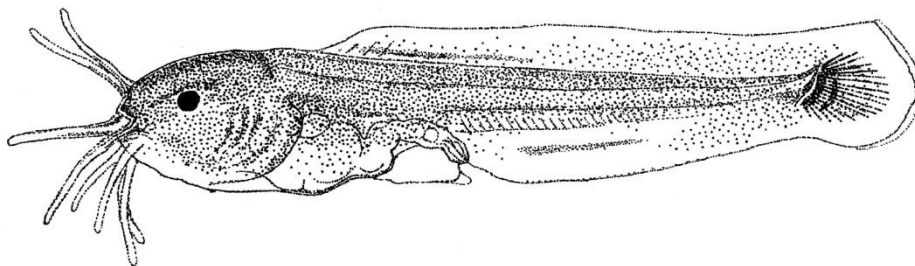


115,2 hPF

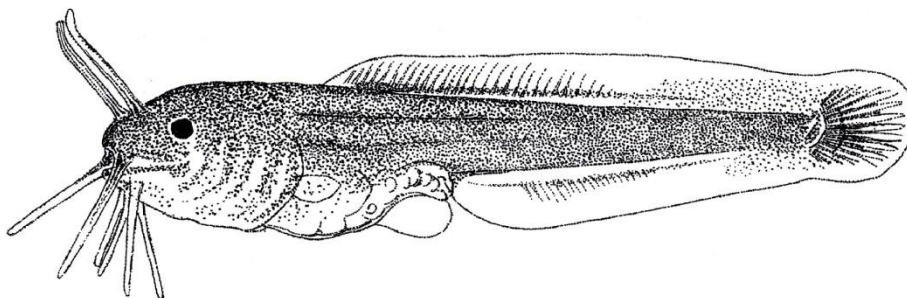


Příloha č. 1: Vývojová tabulka (stáří uvedeno v hodinách po oplození, hPF) pro keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při teplotě 24 °C od stádia vykuleného eleuterembrya přes stádium larvy při zahájení příjmu exogenní potravy (S₉₅ – 115,2 hPF) až do dosažení věku 364,8 hPF (Ilustrace: autor BP)

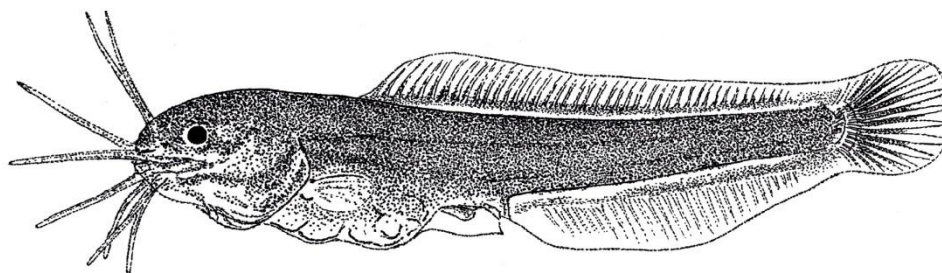
197,8 hPF



268,6 hPF



364,8 hPF



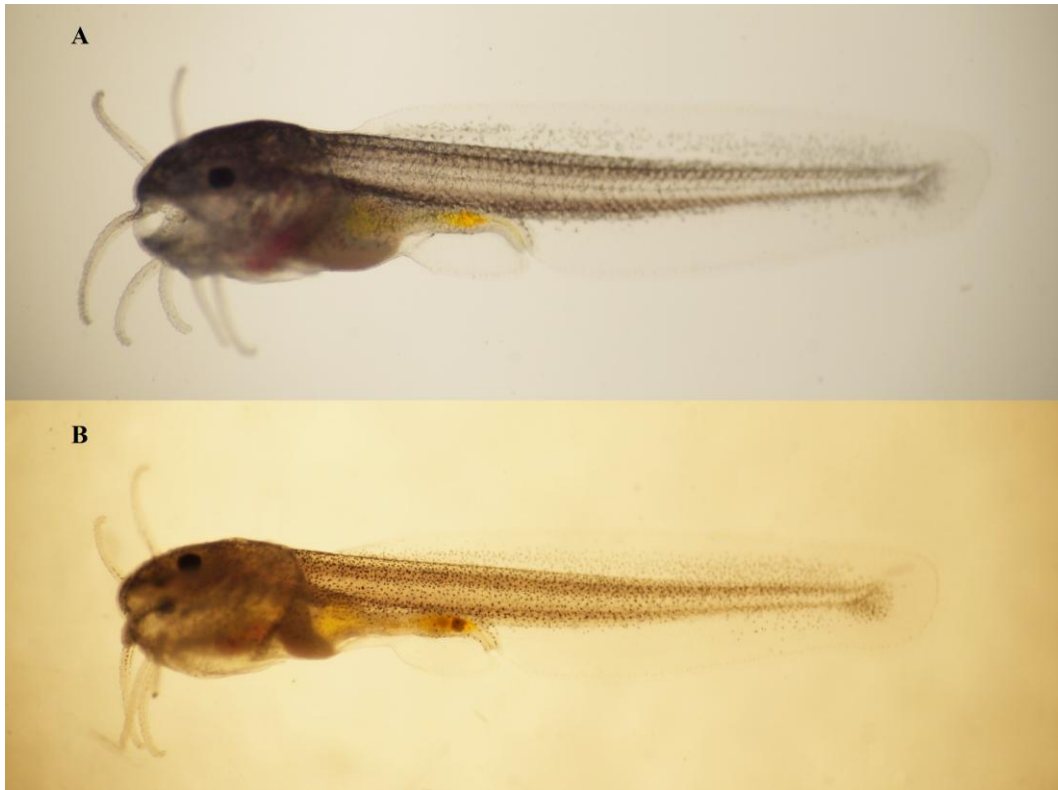
Příloha č. 2: Vývojová tabulka (stáří uvedeno v hodinách po oplození, hPF) pro keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) při teplotě 24 °C od stádia vykuleného eleuterembrya přes stádium larvy při zahájení příjmu exogenní potravy (S₉₅ – 115,2 hPF) až do dosažení věku 364,8 hPF (Ilustrace: autor BP)



Příloha č. 3: Injekce samice keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) kombinovaným hormonálním přípravkem Ovopel (fa AgroFish, Maďarsko) – do hřbetní svaloviny (Foto: autor BP)



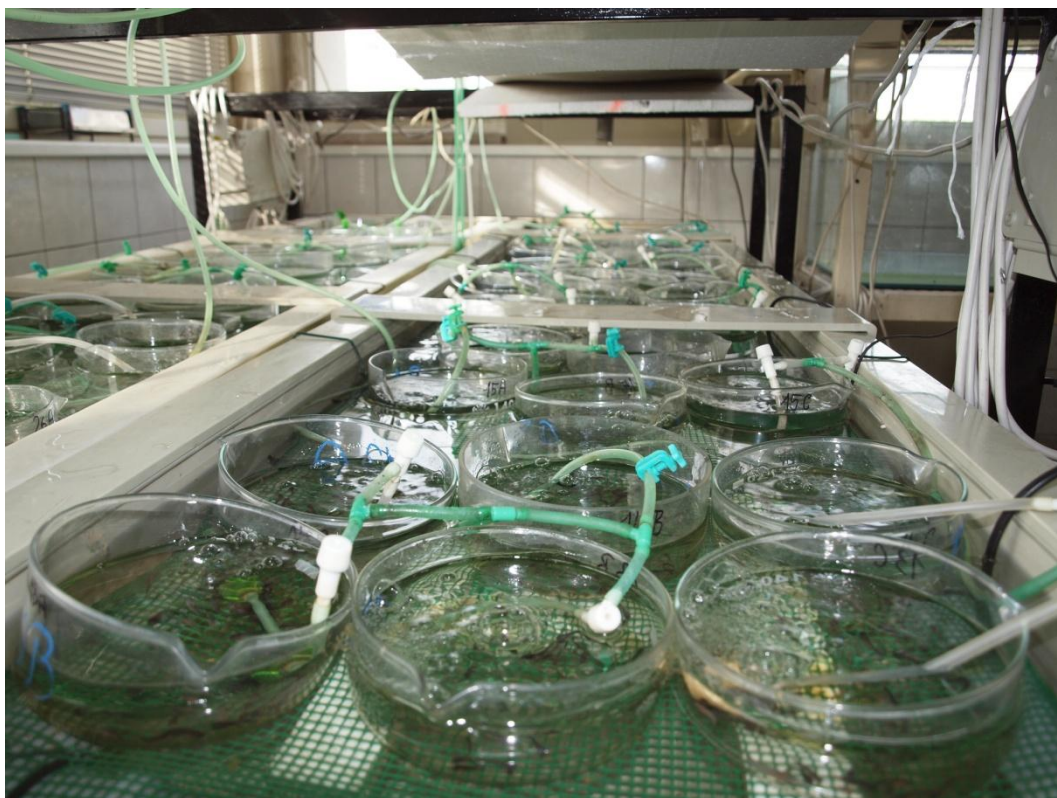
Příloha č. 4: Výtěr samice keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) suchou metodou do misky pomocí masáže břišní partie (Foto: autor BP)



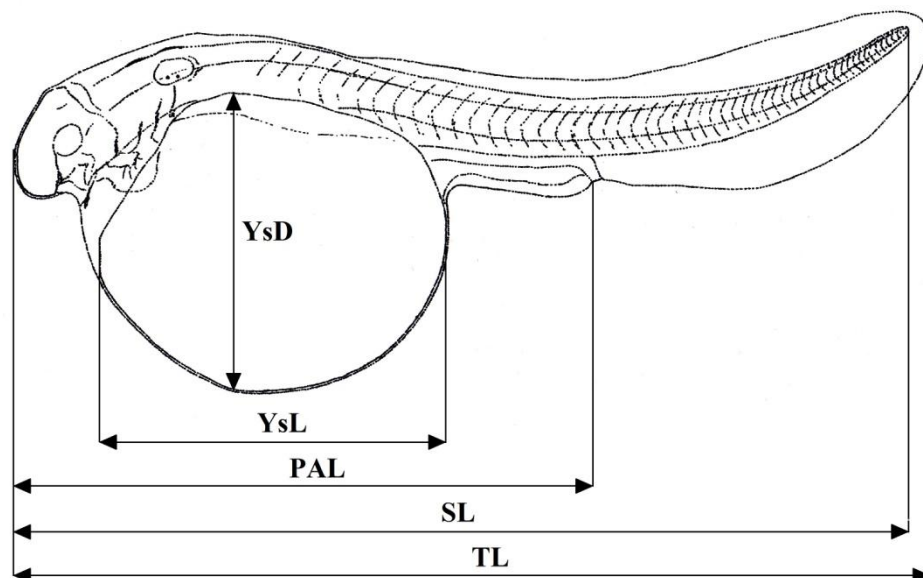
Příloha č. 5: Keříčkovec jihoafrický (*Clarias gariepinus*): A – larva při zahájení příjmu potravy (S₉₅); B – larva při strávení žloutkového váčku (Re₉₅) (Foto: autor BP)



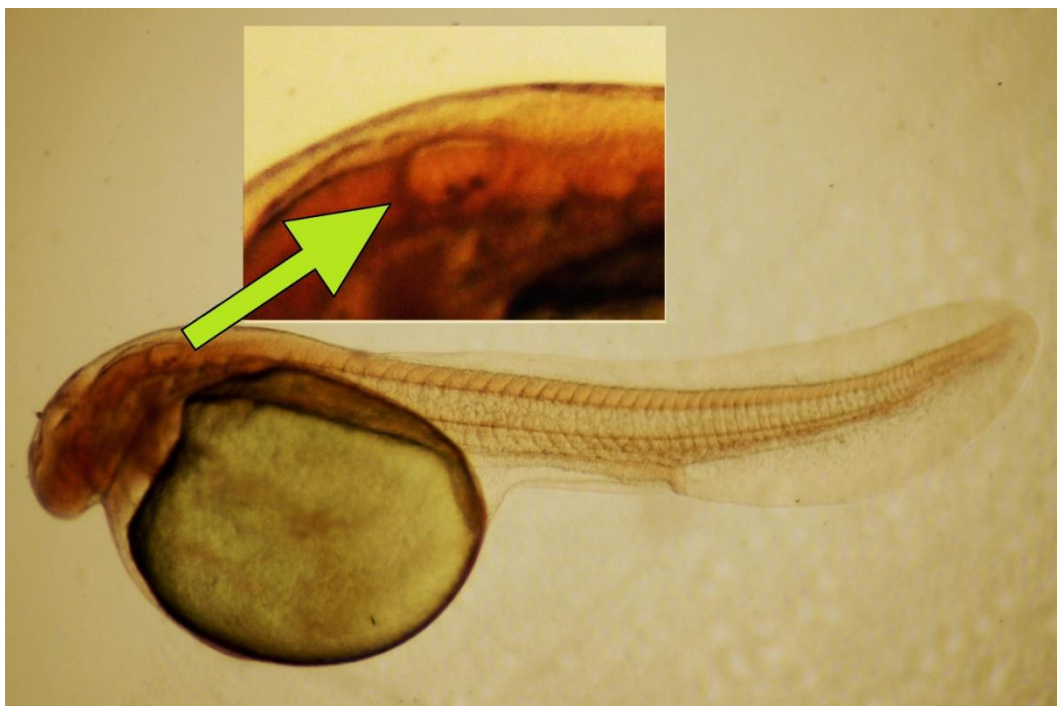
Příloha č. 6: Pokusný systém skládající se z 3 žlabů s odchovnými kádinkami a jedním žlabem se zásobní vodou (Foto: autor BP)



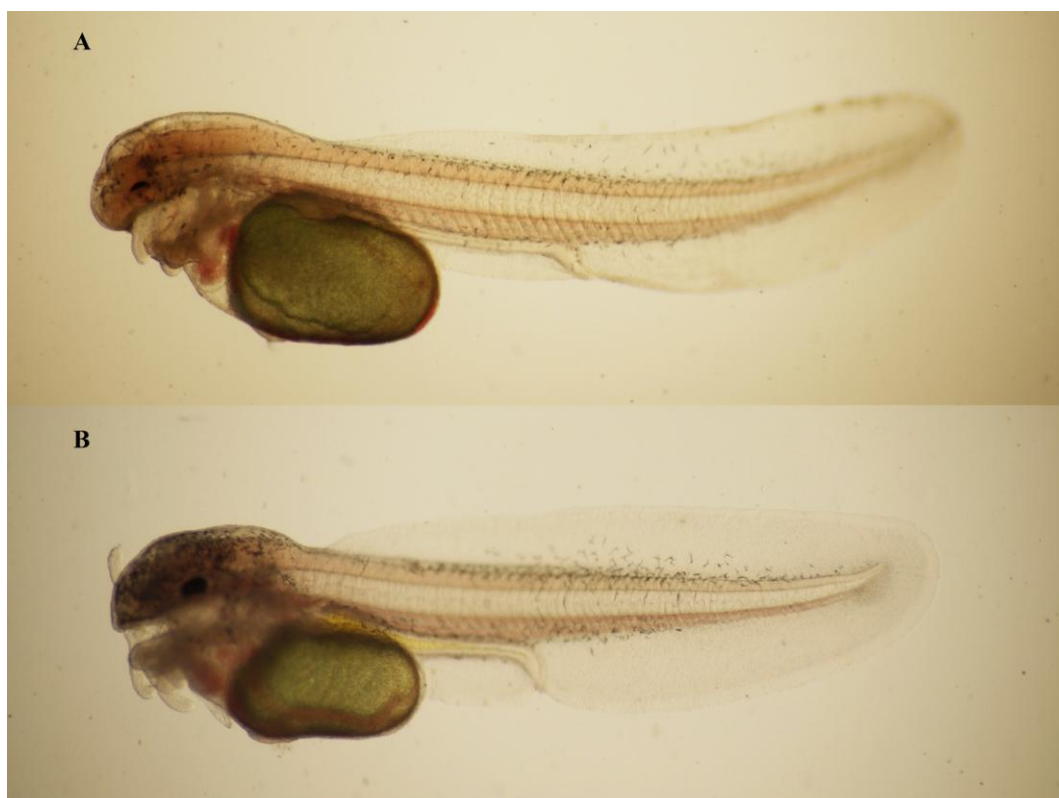
Příloha č. 7: Provdzušňované a v lázni temperované kádinky s inkubovanými eleuterembryi a larvami umístěné na roštu v jednom ze žlabů pokusného systému (Foto: auto BP)



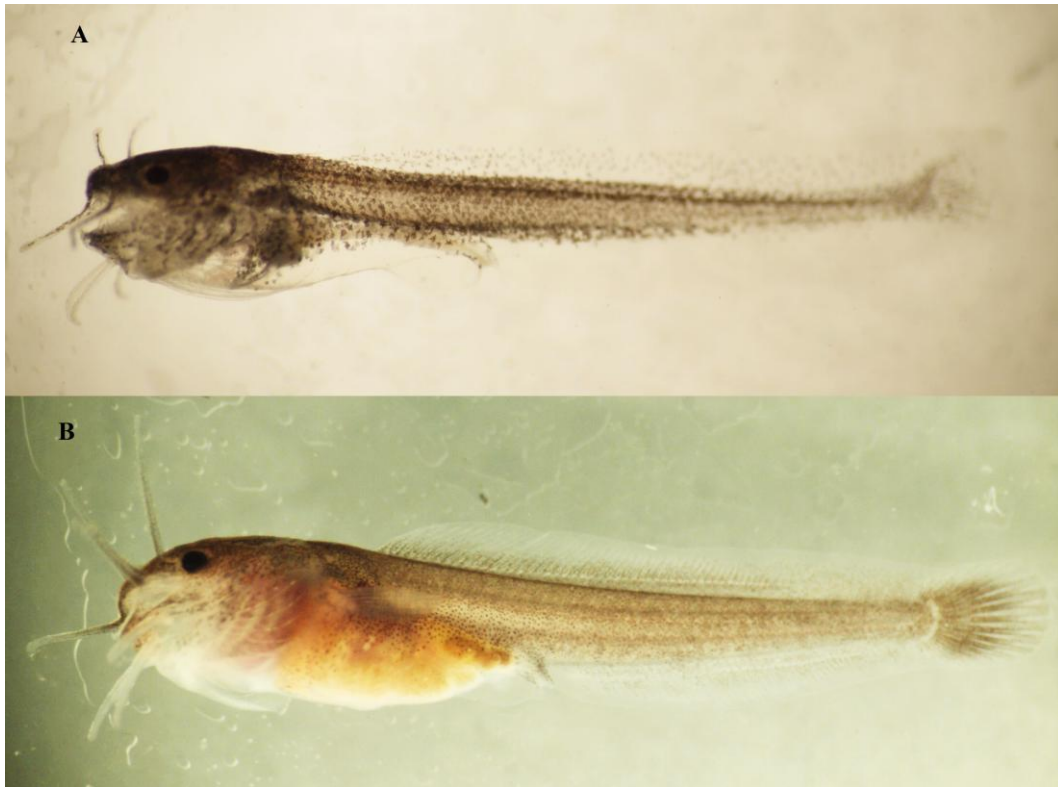
Příloha č. 8: Znázornění způsobu měření základních morfometrických parametrů použitých v rámci BP (Ilustrace: autor BP). TL, celková délka těla; SL, délka těla; PAL, preanální vzdálenost; YsL, délka žloutkového váčku; YsD výška (šířka) žloutkového váčku



Příloha č. 9: Čerstvě vykulené eleuterembryo keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) s detailem otické (sluchové) kapsuly s otolity (Foto: autor BP)



Příloha č. 10: Eleuterembryo keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*): A – stáří 53,3 hPF (první známky pigmentace na těle a v oku); B – stáří 74,4 hPF (zcela pigmentované oko) (Foto: autor BP)



Příloha č. 11: Keříčkovec jihoafrický (*Clarias gariepinus*) ve věku 364,8 hPF. A – larva z kontrolní (hladové) skupiny; B – larva ve stejném věku poprvé krmená 72 hPF (Foto: autor BP)

11. ABSTRAKT

Vliv teploty vody na ontogenezi keříčkovce jihoafrického (*Clarias gariepinus*) během postembryonálního vývoje

Bakalářská práce zahrnovala dva metodicky totožné experimenty, ve kterých byl sledován nástup klíčových úseků rané ontogeneze (H_{95} , S_{95} , Re_{95}) při teplotě 24 °C. V rámci experimentů bylo využito 29 experimentálních skupin eleuterembryí/larev krmených vždy po dobu 30 dní, které se však lišily v načasování začátku podávání vnější potravy. První skupina byla poprvé nakrmena ve věku 72 hPF a každá další skupina vždy o 6 hodin později než skupina předcházející (poslední krmená skupina tak zahájila příjem potravy ve věku 240 hPF). Jako kontrola posloužila skupina, které po celou dobu pokusu nebyla podávána žádná vnější potrava. Byl zkoumán vliv načasování zahájení krmení na morfometrické a gravimetrické parametry, velikostní rozložení, přežívání a míru kanibalismu eleuterembryí/larev. Při teplotě 24 °C se eleuterembrya vykulila (H_{95}) po uplynutí 36, resp. 33 hodin (1., resp. 2. experiment) od oplození. K zahájení příjmu exogenní potravy (S_{95}) došlo během 1. experimentu ve věku 123 hPF a strávení žloutkového váčku u larev (Re_{95}) nastalo ve stáří 150 hPF. V případě 2. experimentu byl příjem exogenní potravy zaznamenán ve stáří 115 hPF a strávení žloutkového váčku u larev ve stáří 161 hPF. Během časového intervalu H_{95} až S_{95} byla zaznamenána vyšší míra růstu, především pak ocasní části těla. V intervalu S_{95} – Re_{95} se u nekrmených larev růst zastavil (první projev hladovění). Na konci pokusu byly vlivem odlišného načasování zahájení krmení statisticky průkazně ovlivněny ($P < 0,01$) všechny sledované parametry kromě míry kanibalismu. Zatímco procentuální zastoupení velkých a středně velkých jedinců (potencionálních kanibalů) klesalo s prodlužující se dobou zahájení krmení, míra kanibalismu se neměnila. Narůstalo však zastoupení malých jedinců v jednotlivých skupinách. U keříčkovce jihoafrického se potvrdilo, že není vhodné z hlediska přežívání oddalovat zahájení krmení. Na rozdíl od přežívání, u morfometrických parametrů nebylo pozorováno statisticky významné negativní snížení hodnot, pokud k zahájení krmení eleuterembryí/larev bylo přistoupeno před dosažením věku 216 hPF. Dále bylo zjištěno, že téměř 100 % jedinců v kontrolní (nekrmené) skupině uhynulo ve stáří 377 hPF. První známky zvýšené mortality však byly pozorovány již ve stáří 283 hPF. Na základě výše uvedeného lze tak říci, že

k nástupu PNR (*point of no return*) došlo u keříčkovce jihoafrického přibližně ve věku 270 hPF.

Klíčová slova: *Point of no return*; Ontogeneze; Keříčkovec; Clariidae; Raný vývoj; Krmení; Kanibalismus; Přežívání

12. ABSTRACT

The effect of water temperature on early ontogeny in African catfish (*Clarias gariepinus*) during post – embryonic development

This thesis is made up from two methodologically identical experiments, which involved observing the starting time of key sections of early ontogeny (H₉₅, S₉₅, Re₉₅) at a temperature of 24°C. The experiments used 29 groups of eleuterembryoes/larvae which were fed for 30 days, but timing of initial feeding of exogenous food was different between the groups. The first group began initial feeding at the age 72 hPF and every other group was fed for the first time 6 hours later than the previous group (the last group was fed at the first time at the age 240 hPF). The group, which wasn't fed exogenous food during the experiment, served as control. The effect of timing of start feeding on morphometric and gravimetric characteristics, size distribution, survival and rate of cannibalism in eleuterembryoes/larvae was examined. A temperature of 24 °C was determined the hatching time of eleuterembryoes after 36, resp. 33 hours (1st, respectively 2nd experiment) from fertilization. The start of intake of exogenous food (S₉₅) was determined at age 123 hPF, yolk sac absorption at age 150 hPF during the 1st experiment. At the 2nd experiment the start of intake exogenous food was determined at age 115 hPF and yolk sac absorption at age 161 hPF. During the interval from H₉₅ to S₉₅ records showed an increased rate of growth, especially the caudal part of the body. At the age from S₉₅ to Re₉₅, growth of unfed larvae was stopped (first effect of starvation). Almost all monitored parameters were significantly affected ($P < 0,01$) by timing of start feeding except for rate of cannibalism. While the percentage representation of large sized and medium sized individuals (the potential cannibals) was decreased with increasing the time of start feeding, the rate of cannibalism wasn't changed. However the number of small sized individuals was increased with increasing the time of start feeding. The study of the African catfish confirmed the negative impact on survival, which is caused by a delay in initial feeding. Unlike survival, with morphometric parameters there wasn't observed a significant decrease in values, provide the larvae was first fed before reaching the age of 216 hPF. It was also found that almost 100 % of the individuals in the control (unfed) group died at age 377 hPF. However the first indications of increasing mortality was observed in age 283 hPF. Based on the above

information, the PNR (point of no return) was reached approximately at the age of 270 hPF in African catfish

Key words: Point of no return; Ontogeny; North African catfish; Clariidae; Early life history; Feeding; Cannibalism; Survival