

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Fakulta rybářství a ochrany vod

## **Bakalářská práce**

2013

Matějková Jindřiška

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**Hormonální indukce ovulace trnovce hřebenočelého**

**(*Agamyxis pectinifrons*)**

**Autor:** Matějková Jindřiška

**Vedoucí bakalářské práce:** Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.

**Konzultant bakalářské práce:** doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

**Studijní program a obor:** B4103 Zootechnika, Rybářství

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** 3.

České Budějovice, 2013

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované 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 vypuštěním 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 30.4.2013

.....  
Jindřiška Matějková

### **Poděkování:**

Tímto bych velmi ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Mgr. Petrovi Podhorcovi, Ph.D. za jeho trpělivost, metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady a cenné připomínky při vypracování této bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala pracovníkům Experimentálního rybochovného pracoviště ve Vodňanech za odbornou pomoc při tvorbě této bakalářské práce. Největší dík patří mé rodině, které děkuji za motivaci a podporu v průběhu celého studia.

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR č. CZ.1.05/2.1.00/01.2004 a za podpory projektu podporovaného Grantovou agenturou ČR č. P502/13/39438P.

---

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Fakulta rybářství a ochrany vod  
Akademický rok: 2011/2012

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

Jméno a příjmení: **Jindřiška MATĚJKOVÁ**  
Osobní číslo: **V10B035P**  
Studijní program: **B4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Hormonální indukce ovulace trnovce hřebenočelého (*Agamysis pectinifrons*)**  
Zadávající katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Cíl práce

Literárna štúdia biológie reprodukcie a praktická optimalizácia umelej reprodukcie tropického sumca - trnovca hřebenočelý (*Agamysis pectinifrons*).

Metodický postup

A. Vypracovanie detailného literárneho prehľadu (leden - duben 2012).

1. Reprodukcia druhu trnovec hřebenočelý (*Agamysis pectinifrons*) v prírodných podmienkach.

2. Neuroendokrinná regulácia ovulácie a spermiácie u rýb.

3. Metódy hormonálnej indukcie ovulácie a spermiácie u rýb.

B. Umelá reprodukcia (květen - srpen 2012).

Hormonálna indukcia ovulácie v kontrolovaných podmienkach. Vplyv GnRHa s alebo bez dopamin inhibítora na sekreciu luteinizačného hormónu z gonádotropných buniek hypofýzy.

C. Vypracovanie bakalárskej práce (září 2012 - prosinec 2012).

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran  
Rozsah pracovní zprávy: 20 - 30 stran  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná  
Seznam odborné literatury:

Burgess, W. E. An Atlas of Freshwater and Marine Catfishes - A Preliminary Survey of the Siluriformes. T.F.H. Publications, Neptune City, 1989, 784 pp.  
Hofmann J., Novák J. Akvaristika - Jak chovat tropické ryby jinak a lépe. X-Egem Nova, Praha, 1996, 197 pp.  
Hofmann J., Novák J. Velký atlas akvarijských ryb. Brázda, Praha, 1998, 364 pp.  
Linhart O, Gela D, Rodina M, Kocour M. Optimalizace umělé reprodukce sumce velkého, *Silurus glanis* L. Bull. VÚRH Vodňany. 2006;42:2.  
Mylonas CC, Fostier A, Zanuy S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. Gen. Comp. Endocrinol. 2010;165:516-534.  
Peter RE, Yu KL. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. Rev Fish Biol Fish. 1997;7:173-197.  
Podhorec P, Kouril J. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. Vet Med. 2009;54:97-110.  
Yaron Z, Bogomolnaya A, Drori S, Biton I, Aizen J, Kulikovskiy Z, Levavi-Sivan B. Spawning induction in the carp: Past experience and future prospects - A Review. Isr J Aquac-Bamidgeh. 2009;61:5-26.  
Zohar Y, Mylonas CC. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture. 2001;197:99-136.  
Zohar Y, Muñoz-Cueto JA, Elizur A, Kah O. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. Gen. Comp. Endocrinol. 2010;165:438-455.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický  
Konzultant bakalářské práce: **doc. Ing. Tomáš Policar, Ph.D.**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický  
Datum zadání bakalářské práce: **2. prosince 2011**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2013**

  
prof. Ing. Otomár Linhart, DrSc.  
děkan

L.S.

  
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 3. února 2012

## OBSAH

1. ÚVOD .....	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	9
2.1. Trnovec hřebenočelý .....	9
2.1.1. Taxonomické zařazení .....	9
2.1.2. Zeměpisné rozšíření .....	9
2.1.3. Charakteristika čeledi Doradidae a popis zkoumaného druhu .....	12
2.1.4. Nároky na chov .....	13
2.1.5. Reprodukce v přírodě a v akvakultuře .....	14
2.2. Reprodukce ryb .....	14
2.2.1. Hormonální řízení ovulace ryb .....	15
2.2.1.1. GnRH .....	15
2.2.1.2. GnRH receptory .....	17
2.2.1.3. Dopamin .....	18
2.2.1.4. Gonadotropní hormony .....	18
2.2.1.5. Ovariální hormony .....	19
2.2.1.6. Ovulace .....	20
2.2.2. Reprodukční dysfunkce .....	21
2.2.3. Náprava reprodukčních dysfunkcí .....	22
2.2.3.1. Preparáty na bázi gonadotropinů .....	22
2.2.3.2. Faktory hypotalamu .....	23
2.2.3.4. Hormonálně indukovaný výtěr u Siluriformes .....	25

3. MATERIÁL A METODIKA.....	26
3.1. Chovné podmínky.....	26
3.2. Experimentální ryby.....	26
3.3. Použité chemické přípravky.....	26
3.4. Umělý výtěr.....	28
3.5. Zpracování výsledků.....	29
4. VÝSLEDKY.....	30
4.1. Experiment č.2.....	30
4.2. Experiment č.1.....	30
4.3. Hodnocení pohlavních produktů.....	33
5. DISKUSE.....	35
6. ZÁVĚR.....	41
7. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY.....	40
8. SEZNAM ZKRATEK.....	57
9. SEZNAM PŘÍLOH.....	58
10. PŘÍLOHY.....	59
11. ABSTRAKT.....	62
12. ABSTRACT.....	63



## 1. Úvod

Česká republika již tradičně patří k akvaristické světové špičce. Kromě estetické stránky může chov tropických druhů ryb přispívat také k získání řady poznatků z jejich biologie, ekologie, etologie a také může napomoci při záchraně ohrožených druhů ryb.

Jednou z atraktivních akvariálních ryb je i trnovec hřebenočelý. Tento druh v porovnání s ostatními druhy patří stále k méně známým a v běžně dostupných publikacích je o chovu těchto ryb velmi málo informací. Názory na odchov těchto ryb jsou téměř jednotné. Zkušenosti akvaristé popisují jejich rozmnožování jako velmi problematické. Příčina tohoto problému pramení pravděpodobně v rozdílném prostředí a podmínkách chovu oproti podmínkám, ve kterých se trnovec hřebenočelý přirozeně vyskytuje.

Umělá reprodukce velkého množství druhů ryb využívaných v akvakultuře je prováděna pomocí hormonálně indukovaného výtěru. V současnosti se všeobecně k indukci ovulace u ryb využívá aplikace hormonálních preparátů. U sumců se úspěšně k vyvolání ovulace využívá zejména aplikace kapří hypofýzy a synteticky vyrobených GnRH analogů v kombinaci s dopamin inhibitorem. Tato kombinace byla již v minulosti úspěšně aplikována i u čeledi Doradidae a v současné době se k indukci ovulace jeví jako nejúčinnější.

Náplní práce bylo zaměřit se právě na rozmnožování tohoto druhu v experimentálním chovu a přinést tak do této problematiky nové poznatky.

Cílem práce byla hormonální indukce ovulace v kontrolovaných podmínkách a vliv dopamin inhibitoru na sekreci luteinizačního hormonu z gonadotropních buněk hypofýzy. Dalším cílem byla snaha posoudit vliv chemismu vody na embryogenezi a vymezit fyzikálně-chemické podmínky pro inkubaci jiker a odchov raných ontogenetických stádií tohoto druhu.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Trnovec hřebenočelý

#### 2.1.1. Taxonomické zařazení

Trnovce hřebenočelého (*Agamyxis pectinifrons*) řadíme mezi paprskoploutvé ryby (Actinopterygii), do řádu sumců (Siluriformes), čeledi trnovcovití (Doradidae), rodu *Agamyxis* (Nelson, 2006). Čeleď Doradidae zahrnuje okolo 35 validních rodů s 90 druhy.

Rod *Agamyxis* čítá v současné době pouze dva druhy a to trnovce hřebenočelého a trnovce běloskvrnného (*Agamyxis albomaculatus*). Poprvé trnovce hřebenočelého popsal Cope v roce 1870 (Franke, 1985). Oba příbuzné druhy jsou si navzájem velmi podobné a vzhledově se liší jen na úrovni drobných rozdílů jako je šířka těla, množství skvrn na povrchu těla příp. vzor ocasní ploutve (Reis a kol., 2003).

#### 2.1.2. Zeměpisné rozšíření

Výskyt sumců je potvrzen na všech kontinentech s výjimkou Antarktidy. Své nejvyšší diverzity ovšem tato skupina dosahuje především v Jižní Americe, kde se vyskytuje 64 % všech doposud známých druhů sumců (Bruton, 1996).

Samotná čeleď Doradidae dosahuje největší druhové bohatosti v nížinných říčních systémech rovníkové části Jižní Ameriky (< 200 m.n.m.) a prakticky vůbec se nevyskytují v řekách položených nad 1000 m.n.m (Lundberg a kol. 2010). Primárně se jedná o řeky Amazon, Maracaibo, Orinoco, Essequibo a Paraná (Obr.č.1.) (Helfman a kol., 2000; Moyer a kol., 2004). Právě v povodí řeky Amazon se nachází více než 70 % validních druhů z čeledi Doradidae (Reis a kol., 2003). Povodí Amazon je největším hydrografickým systémem na světě o rozloze 6 879 761 km<sup>2</sup> a s délkou toku 7 025 km. Amazon je po celé délce napájen více než 1000 většími přítoky pocházejícími z různých geologických oblastí, které významně ovlivňují fyzikálně chemické vlastnosti Amazonu (Konhauser a kol., 1994).

Říční systémy Jižní Ameriky mohou být klasifikovány z hlediska jejich kvality vody do tří skupin - bílá, černá a čirá voda (Sioli, 1984). Bílá voda je typická pro toky Rio Madeira,

Rio Solimoes a hlavní tok Amazon. Bílá voda obsahuje velmi málo rozpuštěných látek, ale velmi mnoho látek nerozpuštěných. Bílé vody mají pH v rozpětí 6,8 - 7,1, vodivost se nejčastěji pohybuje v rozmezí 40 - 100  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , voda je měkká až polotvrdá a obsahuje vysoké množství jílových částic. Průměrná teplota vody se pohybuje kolem hodnot 29 °C (Konhausera kol., 1994, Alcour a kol., 2003). Černá voda je typická pro řeky Rio Negro a Rio Cururu. Voda má typickou čajovou barvu a obsahuje velké množství huminových látek, které se do vody dostávají díky výluhům z pralesních rostlin. Toky s černou vodou jsou charakteristické měkkou, kyselou vodou s pH pohybujícím se v rozmezí 5,4 - 6,0 a vysokým obsahem železa. Voda má nepatrnou vodivost pohybující se mezi 6 - 17  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Průměrná teplota vody kolísá v rozmezí 20 - 24 °C (Rickey a kol., 1990). Čirá voda je charakteristická pro toky vyšších nadmořských výšek. Příkladem mohou být řeky Rio Ucayali, Rio Marañon a horní úseky Amazonu. Tato voda je průzračná, měkká s pH o hodnotách 7,2 - 7,9 a nízkou koncentrací minerálních a nerozpuštěných látek. Vodivost čiré vody se pohybuje mezi 18 - 20  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Teplota vody kolísá mezi 28 - 30 °C (Hofmann a Novák, 1996).

Trnovec hřebenočelý obývá klidné, nížinové, stinné a pomalu tekoucí vody (Obr.č.2) (Reis a kol., 2003). Výskyt trnovce hřebenočelého byl potvrzen v černých vodách a v černých vodách smíšených s vodami bílými. Jeho přítomnost byla prokázána v lokalitách Cotoyacu (Ekvádor), Tambococha (Ekvádor) (Galacatos a kol., 2004), Tahuamanu (Peru) a Manuripi (Bolívie) (Machado-Allison a kol., 1999).

Pro rovníkovou část Jižní Ameriky je příznačné střídání tzv. období dešťů a období sucha. Období sucha je charakterizováno výrazným nedostatkem srážek (Bone a Marshall, 1982), oproti tomu pro období dešťů je typické radikální stoupání hladiny o 10 - 15 m a následné zaplavování travnatých ploch a okolního pralesa. Voda Amazonu je v tomto období většinou zakalená, což je způsobeno proudem vody, který podemílá břehy a nese sebou velké množství půdy. Toto období připadá zejména na měsíce únor - květen, ale zvýšenými srážkami se vyznačují také měsíce listopad a prosinec (Drahotušský a Novák, 2000). Periodicita období dešťů a období sucha má velký význam z hlediska změn fyzikálně chemických parametrů vody a tudíž i na fyziologii a reprodukční chování tropických ryb. Většina tropických ryb se rozmnožuje nejčastěji těsně po nástupu období

dešťů (Welcomme, 1969; Winemiller, 1996) nebo těsně po jeho ukončení (Drahotušský a Novák, 2000). Fyzikálně chemické změny v oblastech s výskytem trnovce hřebenočelého v průběhu období dešťů a období sucha jsou uvedeny v Tab.č.1.



**Obr.č.1:** Geografická distribuce čeledi Doradidae a trnovce hřebenočelého.

**Tab.č.1:** Průměrné hodnoty kvality vod v období dešťů a sucha v lokalitách s výskytem trnovce hřebenočelého (Ekvádor) - modifikováno dle (Galacatos a kol., 2004).

	Teplota (°C)	Kyslík (mg · l <sup>-1</sup> )	pH	Vodivost (μS · cm <sup>-1</sup> )	Zákal (NTU)
<b>Tambococha</b>					
Období dešťů	24,6 ± 0,3	10,9 ± 0,6	6,2 ± 0,3	20,8 ± 1,1	31,6 ± 3,9
Období sucha	26,2 ± 0,7	1,1 ± 0,1	5,9 ± 0,3	58,9 ± 5,4	115,6 ± 5,4
<b>Cotoyacu</b>					
Období dešťů	24,7 ± 0,4	10,9 ± 0,2	6,2 ± 0,3	20,8 ± 1,1	28,7 ± 5,7
Období sucha	26,6 ± 0,5	0,9 ± 0,1	6,1 ± 0,2	66,6 ± 11,6	63,9 ± 4,8



**Obr.č.2:** Ilustrační obrázek lokality Cotoyacu s výskytem trnovce hřebenočelého

### **2.1.3. Charakteristika čeledi Doradidae a popis zkoumaného druhu**

Pro čeleď Doradidae je charakteristická přítomnost dobře vyvinutého hlavového štítu, dále jsou typické na bocích šupiny se středovými dozadu směřujícími trny (Higuchi a kol. 2007), subterminální postavení úst a silně vroubkovaná hřbetní a prsní ploutev (Reis a kol., 2003). Doradidae jsou známí vydáváním vrzavých a kňouravých zvuků, které vyluzují dvěma hlavními způsoby. Při prvním způsobu tzv. stridulují kloubem prsního trnu (kloub prsního trnu částečně zaseknou v kloubní jamce a pohybují prsní ploutví) (Le Bail a kol., 2000). Dalším způsobem je zapojení svalu, kterým se napojuje plynový měchýř k zadní části lebky. Rychlým napínáním a povolováním svalu měchýř naplněný vzduchem rezonuje (Bileyová a Sandfordová, 1998). Doradidae se zdržují zejména při dně tekoucích vod a většinu života žijí ukrytí pod plochými kameny, kořeny, kusy dřeva a kůry (Frank, 1984). Doradidae jsou obecně považováni za oportunní omnivory živící se detritem, měkkýši, kroužkovci, vodním hmyzem, korýši, malými rybami, plody a jiným organickým materiálem (Reis a kol., 2003).

Trnovec hřebenočelý dorůstá do maximální délky 16 cm. Jeho tělo je celé zbarveno hnědě až černě a je poseto četnými žlutými tečkami (Elson a Lucanus, 2003). Břišní partie je zbarvena světleji. Přes boky se jim táhne ve výši postranní čáry jedna řada štítků, kdy každý štítek je zakončen krátkým dozadu směřujícím trnem. Na bázích prsních ploutví vylučují jedovatý sekret, který stéká rýhou v prsním trnu. Paprsky ploutví a trny na bocích zajišťují rybám ochranu proti predátorům, ale také slouží k tomu, aby se ryba zaklínila do štěrbin. Tuto obranu trnovec hřebenočelý doplňuje ještě vydáváním zvláštních zvuků, které mají útočnicka zastrašit. Na dorsální straně těla ryby mezi hřbetní a ocasní ploutví má vyvinutou tukovou ploutvičku. Kolem široké tlamy se nachází tři páry vousků, přičemž dva páry se nachází na dolní čelisti a jeden pár na horní čelisti (Franke, 1985). Živí se převážně faunou dna jako např. larvy hmyzu pakomárů (*Chironomidae*), ale největší přednost dává nitěnkám (*Tubifex*) (Reis a kol., 2003).

#### **2.1.4. Nároky na chov**

Trnovec hřebenočelý je nejaktivnější za soumraku a v noci (nokturní aktivita). Většinu dne tráví ukrytí, proto by v chovné nádrži, měl být dostatek kořenů a jiných úkrytů, které by měly obsahovat větší množství škvír. Pro trnovce hřebenočelého je vhodná nádrž střední velikosti, která by měla být osázena vodními rostlinami a navíc ještě doplněna i rostlinami plovoucími (Zukal, 1976). Nejlépe mu vyhovují teploty pohybující se v rozpětí 25 - 28 °C (Sterba, 1987). Tvrdost vody by neměla vystoupat nad 20 °dH a pH by se mělo udržovat rozmezí 6 - 7,5 (Allgayer a kol. 2007). V případě, že je trnovec hřebenočelý chován v nevyhovujících podmínkách dochází u něho k bílému zakalení očí a následnému úhynu (Franke, 1985). V akvarijských podmínkách tento trnovec velmi dobře přijímá i uměle vyrobené granulované a tabletové krmivo pro akvarijské ryby (Bileyová a Sandfordová, 1998), nicméně největší přednost dává živé potravě, zejména larvám pakomárů a nitěnkám (Reis a kol., 2003).

### **2.1.5 Reprodukce v přírodě a v akvakultuře**

O reprodukci Doradidae je známo velmi málo (Bruton, 1996). Přirozený výtěr je pravděpodobně soustředěn do období dešťů (Burgess, 1989) a probíhá v nočních hodinách v téměř úplné tmě. U příbuzného druhu trnovce amazonského (*Amblydoras hancocki*) je prokázáno, že po příchodu období dešťů vyhledává rybníky, ve kterých je dostatek rostlinných zbytků (Burgess, 1989), ze kterých si staví hnízdo (Bruton, 1996). Do vytvořeného hnízda ukrývá své jikry, o které následně oba rodiče pečují a chrání je před predátory. Rodiče hnízdo hlídají až do doby vykulení jiker (Burgess, 1989). Stavba takového hnízda se předpokládá i u trnovce hřebenočelého, nicméně vědecky zatím nebyla potvrzena.

Umělá reprodukce byla provedena u příbuzného trnovce běloskvrného a trnovce amazonského. Nicméně u obou druhů se ovšem objevily problémy v průběhu líhnutí larev, které nemohly protrhnout jikerčné obaly a proto musely být tyto obaly odpreparovány uměle (Franke, 1985).

U trnovce hřebenočelého se uvádí, že je velmi plodný, jeho plodnost se pohybuje přibližně kolem 20 000 kusů jiker diskovitého tvaru (Mayland, 1998). Pohlavní dimorfismus se u něj projevuje zejména stavbou těla, kdy samci jsou menší a štíhlejší oproti tomu samice jsou větší, zavalitější a v období tření mají zvětšenou dutinu tělní (Schaefer, 2004). Informace o umělém výtěru tohoto druhu nejsou známé.

## **2.2. Reprodukce ryb**

Jednou ze základních biologických vlastností živých organismů je schopnost se rozmnožovat a tím je dána možnost zachování živočišných druhů a kontinuity života vůbec (Drahotušský a Novák, 2000). Primárním způsobem rozmnožování ryb je rozmnožování pohlavní, při němž vzniká nový jedinec splynutím vajíčka a spermie (Hofmann a Novák, 1996). Hlavním předpokladem plynulého rozmnožování je normální funkce pohlavního ústrojí, tj. produkce plnohodnotných, oplození schopných pohlavních buněk a nerušený vývoj nového jedince (Jelínek a kol., 2003). V reprodukčním procesu (ať již přirozeném nebo uměle řízeném), hrají hormony ryb stejně jako hormony vyšších obratlovců zcela

zásadní úlohu. Gametogeneze a finální zrání gamet je regulováno kaskádou hormonů podél reprodukční osy „hypotalamus - hypofýza - gonády“ (Peter a Yu, 1997).

### **2.2.1. Hormonální řízení ovulace ryb**

Reprodukce ryb je ovlivněna celou řadou vnějších a vnitřních faktorů. Mezi vnitřní faktory patří zejména zdravotní a kondiční stav ovlivněný způsobem chovu, jeho hygienou, kvalitou a výživou generačních ryb. Mezi vnějšími faktory dominuje zejména teplotní režim, světelný režim a chemismus vody. Dalším významným faktorem je přítomnost ryb stejného druhu opačného pohlaví, či výtěrového hejna. Tyto informace jsou přijímány a následně analyzovány centrální nervovou soustavou (Pankhurst, 1998). V případě vyhodnocení vnějších a vnitřních podmínek jako vhodných pro reprodukci dochází k sekreci gonadotropin uvolňujícího hormonu (GnRH). GnRH je nejvýznamnější stimulant předovulačního vzrůstu koncentrace luteinizačního hormonu (LH) nevyhnutelného pro iniciaci steroidogeneze a následné ovulace.

#### **2.2.1.1. GnRH**

Gonadotropin uvolňující hormon je z chemického hlediska neurodecapeptid hypotalamického původu (Jelínek a kol., 2003). GnRH je hlavním regulátorem sekrece LH (Kah a kol., 2007). Vůbec poprvé se GnRH podařilo izolovat ze savčího hypotalamu ve složení: pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>, u ryb se podařilo identifikovat GnRH poprvé u druhu losos keta (*Oncorhynchus keta*) (Sherwood a kol., 1994). U obratlovců se v posledním desetiletí zvýšil počet identifikovaných GnRH forem na 14 (Adams a kol., 2003). Mezi obratlovci představují ryby skupinu vykazující největší počet GnRH variant (Sherwood a kol., 1983), doposud bylo u ryb identifikováno osm forem GnRH (Tab.č.2) (Adams a kol., 2002; Montaner a kol., 2001; Carolsfeld a kol., 2000). Jednotlivé formy GnRH se mezi sebou liší v zastoupení aminokyselin v peptidovém řetězci (Bosma a kol., 2000). Na základě lokalizace v mozku a předpokládané funkce se dělí identifikované GnRH formy do tří monofyletických skupin (Fernald a White, 1999). Každý rybí druh produkuje minimálně dvě až tři formy GnRH (Lethimonier a kol., 2004), které se liší v aminokyselinové sekvenci (Dubois a kol., 2002). Do skupiny I (GnRH-I), řadíme GnRH formy u kterých se předpokládá hlavní podíl na regulaci sekrece LH



s místem produkce nacházejícím se v přední oblasti hypotalamu a v hypofýze (King a Millar, 1995). Řadíme sem např. savčí (mGnRH), kuřecí-I (cGnRH-I), pražmový (sbGnRH), sumový (cfGnRH), (Dubois a kol., 2002). Do skupiny II (GnRH-II) řadíme jenom kuřecí GnRH-II s místem exprese v tegmentu středního mozku (cGnRH-II), které bylo potvrzeno u téměř všech zkoumaných obratlovců. Prokázán byl vliv kuřecí GnRH-II na sexuální chování a příjem potravy (Guilgur a kol., 2006; Kah a kol., 2007; Miyamoto a kol., 1984). Linie III (GnRH-III) zahrnuje pouze lososové GnRH (sGnRH), které je výskytem limitováno pouze na ryby a jeho místem produkce jsou čichové laloky, terminální nerv a přední mozek (Okubo a Nagahama, 2008; White a kol., 1998). Lososové GnRH se připisuje hlavní podíl na regulaci sekrece LH u rybích druhů bez přítomnosti GnRH formy ze skupiny I. V mozku příslušníků řádu Siluriformes byly prokázány pouze dvě formy GnRH a to lososové GnRH (sGnRH) a kuřecí GnRH (cGnRH-II) (Peter a Yu, 1997).

Syntéza sGnRH probíhá v neuronech hypotalamu, v endoplazmatickém retikulu, odkud je předán Golgiho komplexu, kde se balí do granulí obklopených membránou. Z nervových zakončení jsou granule putující v axonech uvolňovány změnou akčního potenciálu (Fink, 1988). Díky absenci hypotalamo - hypofyzárního portálního systému u kostnatých ryb jsou granule GnRH transportovány podél nervových vláken přes hypofyzární stopku k nervovým zakončením v těsné blízkosti buněk adenohipofýzi (Van der Kraak a kol., 1988). U savců uvolňování GnRH probíhá tzv. koordinovanou pulzační sekrecí. Pulzační sekrece z nervových zakončení v hypotalamu zajišťuje pulzační vlnu, která je důležitá pro stimulaci LH sekrece (Hotchkiss a Knobil, 1994). Předpokládá se, že toto koordinované pulzační uvolňování GnRH je pravděpodobně vyvinuté i u ryb (Yaron a kol., 2003).

**Tab.č.2:** Přehled aminokyselinového spektra u doposud identifikovaných GnRH forem u ryb – upraveno dle (Lethimonier a kol., 2004).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>Savčí GnRH</b> (mGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Matsuo a kol., 1971)
<b>Kuřecí GnRH-II</b> (cGnRH-II)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Tyr	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Yu a kol., 1988)
<b>Sumcový GnRH</b> (cfGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Asn	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Bogerd a kol., 1992)
<b>Lososový GnRH</b> (sGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Trp	Leu	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Sherwood a kol., 1983)
<b>Sleďový GnRH</b> (hgGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Carolsfeld a kol., 2000)
<b>Síhový GnRH</b> (wfGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Met	Asn	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Adams a kol., 2002)
<b>Pražmový GnRH</b> (sbGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Powell a kol., 1994)
<b>Medakový GnRH</b> (mdGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Phe	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>	(Montaner a kol., 2001)

### 2.2.1.2. GnRH receptory

GnRH uplatňuje svoji úlohu prostřednictvím rozpoznání a navázání se na specifické GnRH receptory (GnRH-R) (Blomenrohr a kol., 2005). GnRH-R jsou řazeny mezi receptory spojené s G proteinem (GPCR) (Cardinaud a kol., 1998). Vlastní receptor je složen z polypeptidového řetězce, který přechází sedmkrát přes lipidovou dvojvrstvu, střídající mimobuněčné a vnitrobuněčné sekvence (Sealfon a kol., 1997). Charakteristická struktura GPCR je složena ze tří hlavních funkčních domén: transmembránová doména, N-terminální extracelulární a intracelulární doména, C-terminální cytoplazmatická doména (Blomenrohr a kol., 2002). GnRH-R se v současné době rozdělují na dva typy a to na typ I., který je bez koncové intracelulární části a má největší afinitu k mGnRH-I. Oproti tomu II. typ, který má koncovou intracelulární část má větší afinitu k cGnRH-II (Sealfon a kol., 1997).

### 2.2.1.3. Dopamin

Antagonisticky vůči působení GnRH a zároveň inhibičně ve vztahu k sekreci LH působí Dopamin (DA). DA je katecholaminní neurotransmitter, který zabraňuje předčasnému dozrávání pohlavních produktů nebo jejich dozrávání v nevhodných podmínkách (Dufour a kol., 2005). Hlavní roli při tlumícím účinku dopaminu během procesu vitelogeneze hraje pravděpodobně hladina estradiolu (E2). Toto bylo zkoumáno a prokázáno u keříčkovce dvoupásého (*Heteropneustes fossilis*) (Senthilkumaran a Joy, 1995). Účinek DA spočívá v narušení vnitrobuněčné signalizační GnRH kaskády (Chang a kol., 1993), redukci počtu vazebných míst - receptorů pro GnRH na gonadotropních buňkách (de Leeuw a kol., 1989) a zablokováním sekrece GnRH z nervových zakončení v hypofýze (Yu a Peter, 1992). Inhibiční účinky DA jsou zprostředkovány pomocí dvou hlavních skupin DA receptorů (Dufour a kol., 2010), které se liší v schopnosti aktivovat D1 nebo inhibovat D2 enzym adenylátcyklázu (Kebabian a Calne, 1979). U vícerych příslušníků řádu Siluriformes (Wang a kol., 2010; Abrabaci a Sari, 2004; Adebisi a kol., 2013) byla zaznamenána výrazná DA inhibice sekrece LH (Dufour a kol., 2010).

### 2.2.1.4. Gonadotropní hormony

Až do konce 80. let minulého století se fyziologické funkce spojené s působením gonadotropních hormonů u ryb připisovaly pouze jednomu hormonu s gonadotropním účinkem. Objev dvou rozdílných gonadotropinů u lososa koncem 80. let tento pohled změnil (Kawauchi a kol., 1989). Místem syntézy a uvolňování těchto hormonů, které kontrolují činnost gonád, a také štítné žlázy je adenohipofýza. Tyto hormony byly pojmenovány podle jejich účinků na gonády: folikuly stimulující hormon (FSH) a luteinizační hormon (LH) (Bentley, 1998).

Oba tyto hormony jsou proteiny o molekulové váze zhruba 3000, obsahují také zhruba 12 - 20 % sacharidů. Všechny tyto hormony tvoří dvě neidentické podjednotky ( $\alpha$  a  $\beta$ ), které jsou spojeny nekovalentní vazbou. Další takové hormony s podobnou strukturou a původem byly identifikovány u členů všech tříd obratlovců (Bentley, 1998). Subjednotka  $\alpha$  vykazuje u obratlovců vysoký stupeň mezidruhové identity a to na úrovni 60 - 90 %, to se děje díky karboxyl terminálnímu zakončení. Subjednotka  $\beta$  naopak vykazuje značný stupeň

diferenciace. U ryb je u FSH $\beta$  shoda přibližně 53 % a u LH $\beta$  se shoda pohybuje na úrovni 67 % (Moyle a kol., 1994).

U lososovitých druhů se zjistilo, že FSH a LH jsou stejně účinné při stimulaci sekrece estradiolu - 17 $\beta$  z folikulárních oocytů podstupujících vitelogenezi. LH se však jeví jako účinnější při stimulaci sekrece 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pergen-3-one (Sakai a kol., 1989; Schulz a kol., 1991, 1992). V průběhu celé vitelogeneze je převládající výskyt hlavně FSH zatímco koncentrace LH vykazuje velmi ostrý vrchol směrem k ovulaci (Davies a kol., 1995; Prat a kol., 1996).

### **2.2.1.5. Ovariální hormony**

#### **Steroid indukující dozrávání**

LH stimuluje zrání oocytů tím, že stimuluje buňky folikulů syntetizovat steroidy indukující dozrávání (MIS). Studie na různých druzích ryb ukázaly, že steroidem s největším účinkem navozujícím konečné dozrávání oocytů je 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (Nagahama a kol., 1995).

#### **Ovariální steroidní zpětná vazba**

Zpětnovazebné účinky pohlavních hormonů působí na mozek a podvěsek mozkový a tím umožňují integraci s environmentálními podněty, aby v konečném důsledku vyvolali nárůst předovulační úrovně LH (Aida, 1988). Studie s karasem zlatým (*Carassius auratus*) ukázaly, že zvýšené hladiny testosteronu (T) a estradiolu (E2) jsou důležité pro úspěšné dosažení předvýtěrové hladiny LH (Kobayashi a kol., 1989). Mechanismus pozitivní nebo negativní zpětné vazby steroidů je potvrzený u mnoha druhů ryb, u sumců např. Auroa a kol. (2007). Rozhodujícím faktorem uplatnění zpětné vazby hraje především stupeň vývoje gonád a výtěrové období (Navas, 1995).

#### **Prostagladiny**

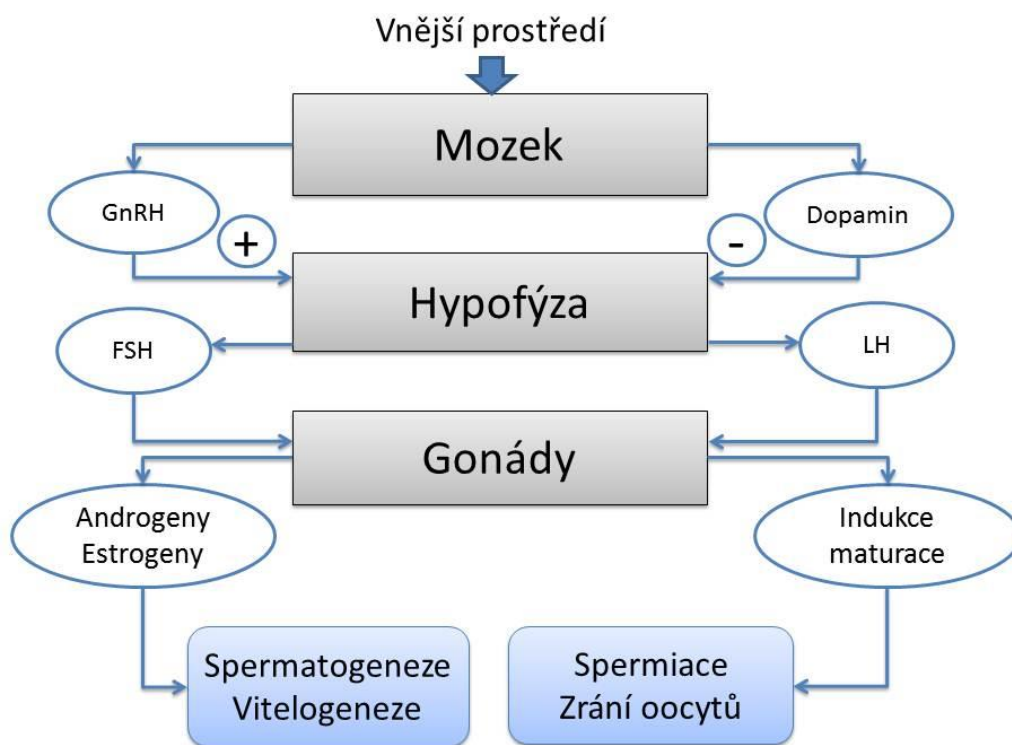
Prostaglandiny (PG) jsou fyziologicky aktivní látky, které jsou syntetizované téměř ve všech tkáních a orgánech, zejména v semenných váčcích, ledvinách a stěnách cév. Svým

vznikem z esenciálních mastných kyselin jsou podobné vitaminům a řada účinků má společný charakter s tkáňovými hormony (Jelínek a kol., 2003).

U ryb je ovulace zprostředkována PG z řady F (PGF) (Goetz, 1983). Syntézy PGF se účastní proteiny jako je lipoxigenáza, kináza C, cyklooxygenáza metabolismu arachidonové kyseliny a vlastní syntéza je stimulována MIS (Patiño, 2003). Zvýšená syntéza PG indukovaná buď LH nebo MIS se jeví jako obecný požadavek pro LH vyvolanou ovulaci (Goetz a kol., 1991).

### 2.2.1.6. Ovulace

Ovulaci rozumíme prasknutí stěny folikulu v důsledku proběhlých změn v její skladbě a zvýšeného nitrofolikulárního tlaku, vyplavení vajíčka a jeho přechod do vejcovodu (Jelínek a kol., 2003). U kostnatých ryb je ovulace spojena s vysokým nárůstem sekrece LH (Kime, 1993).



**Obr.č.3:** Zjednodušené schematické znázornění reprodukční osy ryb – upraveno podle (Mylonas a kol., 2010).

### 2.2.2. Reprodukční dysfunkce

U ryb chovaných v zajetí se často vyskytují reprodukční dysfunkce (Brzuska, 1999) znemožňující spontánní podstoupení ovulace resp. spermiace a následný přirozený výtěr. Tyto dysfunkce se vyznačují různým stupněm závažnosti a jejich závažnost je závislá na druhu ryby a charakteru chovného prostředí (Zohar a Mylonas, 2001). U jikernaček se nejčastěji jedná o poruchy dozrávání ovocytů a následné selhání ovulace a tření (Petera kol., 1993; Mañanos a kol., 2008; Mylonas a Zohar, 2007). U mlíčáků může docházet k produkci nízkého objemu mlíčí či k produkci mlíčí o nízké kvalitě (Billard, 1986). To je pravděpodobně zapříčiněno podmínkami chovu v zajetí, které se diametrálně odlišují od podmínek v prostředí, ve kterém se ryby přirozeně vyskytují (Abraham, 1988). V umělém prostředí často chybí přirozené třecí podněty jako je třecí substrát, chemické složení vody, hloubka, hydraulika, atp. (Mylonas a Zohar, 2001).

U velkého množství rybích druhů trvale chovaných v umělých podmínkách je často pozorován fakt, že jikernačky úspěšně podstoupí vitelogenezi, ale dochází k selhání finálního zrání ovocytů (FOM) a výsledkem je, že ryby neovulují a tudíž nedochází k výtěru (Angulleiro a kol., 2006; Barbaro a kol., 2002). Endokrinní příčinou proč jikernačky nepodstupují FOM je, že nedochází k zvýšené sekreci LH z hypofýzy na konci vitellogeneze (Mylonas a Zohar, 2001). Nicméně bylo prokázáno, že LH je syntetizován během vitellogeneze a uložen v hypofýze, protože obsah LH a jeho mRNA v podvěsku mozkovém se neliší u volně žijících versus domestikovaných ryb, což naznačuje, že jde o problém uvolnění LH nikoliv o jeho syntetizování (Steven, 2000; Steven a kol., 2000). Přehled problémů vyskytujících se v reprodukci ryb a jejich případná řešení jsou předhledně zobrazeny v tab. č. 3.

**Tab.č.3:** Přehled možných problémů v reprodukci ryb a jejich případná řešení - modifikováno dle (Pankhurst, 1998).

Problém	Příčina	Způsob řešení problému	
Gamety se nezvětšují	Stres	Chovatelský zásah	Snížení stresové zátěže
			Zvýšení objemu chovného prostoru
		Výživa	Uspokojení nutričních požadavků
		Hormonální zásah	Aplikace pelet obsahujících GnRH s protražovaným účinkem
Nedochází k závěrečnému zrání ovocytů	Fyzikální	Úprava kvality prostředí	
	Sociální	Řízené nasazování generačních ryb	
		Hormonální terapie	Injekční aplikace hormonálních preparátů
Nedochází k výtěru	Fyzikální	Úprava kvality prostředí	
	Sociální	Řízené nasazování generačních ryb	
		Hormonální zásah	Injekční aplikace hormonálních preparátů
Nevhodnost výtěrového období	Fyzikální	Řízení kvality prostředí	

## 2.2.3 Náprava reprodukčních dysfunkcí

### 2.2.3.1. Preparáty na bázi gonadotropinů

V případě aplikace preparátů na bázi gonadotropinů se nahrazuje nedostatečná produkce endogenního LH exogenním LH (kapří hypofýza) nebo chemickou strukturou LH podobným choriogonadotropinem (Levavi-Zermonsky a Yaron, 1986).

## **Kapří hypofýza**

K stimulaci ovulace u ryb byla rybí hypofýzy využita poprvé v Brazílii v roce 1930 (von Ihering, 1937; Fontenele, 1952), další experimenty s využitím rybí hypofýzy se uskutečnily v USA (Hasler a kol., 1940) a v Japonsku (Migita a kol., 1952). Hypofýzy se odebírají z pohlavně dospělých ryb, nezávisle na jejich pohlaví. Rybí hypofýzy shromážděné v období tření jsou při nápravě reprodukčních dysfunkcí účinnější, to je pravděpodobně způsobeno zvýšenou akumulací LH v hypofýze (Zohar, 1989). Obsah LH v hypofýze závisí na hmotnosti, pohlaví, věku, ročním období a době skladování hypofýzy (Yaron, 1995).

Aplikace hypofýzy je ovšem spojena s různými nevýhodami: A) vysoká variabilita koncentrace LH v hypofýze, B) dochází k podání dalších hormonů nacházejících se v hypofýze, které mohou negativně ovlivnit fyziologii ošetřených ryb, C) potenciální přenos nemocí na ošetřené ryby, D) možnost zánětlivé reakce vyvolané hypofyzárními tkáněmi (Zohar a Mylonas, 2001).

## **Choriogonadotropin (hCG)**

Druhou variantou přípravků na báze gonadotropinů jsou preparáty s obsahem lidského choriového gonadotropinu - hCG (Donaldson, 1996), získávaného z moči těhotných žen (Katzman a Doisy, 1932). Aplikace hCG u ryb se provádí v jednom nebo vícenásobném ošetření o celkové dávce 500 - 4000 MJ · kg<sup>-1</sup> (Ohta a Tanaka, 1997). Stejně jako u jiných hormonálních terapií je pro samce postačující dva až čtyřikrát nižší dávka hCG k indukci spermiace (Tamaru a kol., 1996; Watanabe a kol., 1998).

Nevýhodou přípravků s obsahem hCG je jejich vysoká pořizovací cena (Mylonas a Zohar, 2001, Rainis a Ballestrazzi, 2005) a zjištění, že u ryb dříve injikovaných hCG se v následujících výtěrových obdobích může projevit snížená schopnost hCG stimulovat ovulaci (Van der Kraak a kol., 1989; Watanabe a kol., 1998).



### 2.2.3.2. Faktory hypotalamu

#### GnRH

Převratný objev GnRH koncem 20. století (Matsuo a kol., 1971) dal možnost vzniku novému typu léčby reprodukčních dysfunkcí u ryb tzv. hypotalamický přístup (Zohar, 1988). Tento nový směr přidal k doposud používanému typu hormonální terapie možnost přímé stimulace gonadotropních buněk, které uvolňují rybímu tělu vlastní LH (Zohar a Mylonas, 2001). Postavení GnRH v rámci hormonální kaskády dává možnost komplexnější nápravy reprodukčních dysfunkcí a to v podobě nejen stimulace sekrece LH (Yaron a Sivan, 2006), ale i sekrece spolupůsobících faktorů jako jsou růstové hormony (Le Gac a kol., 1993), tyroidní hormony, atp. (Cyr a Eales, 1996). Počáteční experimenty s indukci ovulace za použití přírodních GnRH peptidů byly charakteristické nutností použití vysokých dávek GnRH a relativně nízkou mírou úspěšné ovulace (Kouřil a Barth, 1981). Problémem byla nízká odolnost přírodního GnRH vůči enzymatické degradaci proteázami lokalizovanými v ledvinách, játrech a hypofýze (Zohar a kol., 1990).

Účinnost neurodekapetidu GnRH byla několikanásobně zvýšena syntetizováním GnRH analogů (GnRHa), které jsou rezistentní vůči štěpení endopeptidázami (Zohar, 1990). Chemická syntéza eliminuje riziko přenosu infekčních onemocnění a také umožňuje požití přesné dávky GnRH (Chen a Fernald, 2008). Další výhodou je vysoký stupeň podobnosti GnRH peptidů mezi různými druhy, což umožňuje použít jeden přípravek pro více druhů ryb (Podhorec a Kouřil, 2009). Syntetizované GnRHa se od sebe odlišují aminokyselinovým spektrem, které podstatně ovlivňuje jejich účinnost (Fornies a kol., 2003).

Vyjma typu GnRHa je významným faktorem i způsob aplikace, jež je podmíněn typem rozvoje gonád (Mylonas a Zohar, 2007). U druhů, které mají asynchronní dozrávání gonád je vhodná aplikace dlouhodobě se uvolňujících přípravků GnRHa (Mylonas a Zohar, 2001). Oproti tomu u druhů se synchronním rozvojem gonád je většinou postačující jednorázové injekční podání (Yaron, 1995).

## Dopamin

Antagonisté dopaminu se v kombinaci s GnRHa využívají k nápravě reprodukčních dysfunkcí u ryb vyznačujících se silnou dopamin inhibicí LH sekrece (Peter a kol., 1993). DA inhibuje uvolňování LH z hypofýzy a zároveň narušuje syntézu a sekreci GnRH (Chang a kol., 1984).

K vyvolání ovulace se využívá kombinované podání GnRHa a antagonistů dopaminu (např. domperidone, pimozide, metoclopramid) v jedné nebo ve dvou dávkách. Podání dopamin inhibitoru spolu s GnRHa vede k odstranění inhibice sekrece gonadotropinů a ke zvýšení stimulačního účinku GnRHa (Trudeau a Peter, 1995).

### 2.2.4. Hormonálně indukovaný výtěr u Siluriformes

Hormonální indukce ovulace u sumců se nejprve prováděla pouze za pomoci metody hypofyzace extraktem kapří hypofýzy (Fijan, 1975; Horváth a Tamas, 1976; Kouřil a kol., 1995). Úspěšné navození ovulace díky hypofyzaci bylo uskutečněno např. u anténovce tieténského (*Zungaro jahu*) (Nogueira a kol., 2012), anténovce skvrnitého (*Pimelodus maculatus*) (Arantes a kol., 2013) a dalších. Po převratném objevu GnRHa došlo k úspěšnému navození ovulace u sumce velkého (*Silurus glanis*) v kombinaci s dopamin inhibitorem (Epler a Bieniarz, 1989). Další úspěšných výsledků za pomoci GnRHa a dopamin inhibitorů bylo dosaženo např. u sumička amurského (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Wang a kol., 2010) a anténovce tygřího (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (Nuñez a kol., 2008).

Umělá reprodukce u Doradidae se provádí pouze sporadicky a daří se obvykle až po hormonální stimulaci. U některých Doradidae (trnovec běloskvrnný, trnovec amazonský) se již umělé reprodukce podařilo dosáhnout (Franke 1989), nicméně publikovaných informací je velmi málo. U čeledi Doradidae byl k indukci ovulace a spermiace použit přípravek ovaprim, obsahující sGnRHa a dopamin inhibitor (domperidon). Aplikace tohoto přípravku byla užita u příbuzného trnovce bělopruhého (*Platydoras costatus*), nicméně po aplikaci tohoto přípravku u ryb nedocházelo k žádné ovulaci ani spermiaci (Hill a kol., 2009).

### **3. Materiál a metodika**

#### **3.1. Chovné podmínky**

Experimentální ryby trnovce hřebenočelého byly chované celkem ve čtyřech akváriích. Chovné nádrže pro ryby byly o objemu 300 l. Dno akvárií bylo ponecháno bez substrátu s ohledem na snadnou údržbu. Akvária byla vybavena množstvím kořenů, které sloužily rybám jako úkryty. Akvária byly lokalizované v prostorech Experimentálního rybochovného pracoviště, FROV JČU ve Vodňanech. Ryby byly rozděleny podle pohlaví tak, aby v každé nádrži bylo 10 samic a 8 samců. V průběhu celého odchovu byl udržován stálý světelný režim 12 hodin světlo a 12 hodin tma. Voda měla teplotu: 26 - 27 °C (T-Computer Set, Aqua Medic, Německo), pH 6 – 8, vodivost byla udržována na hodnotách 140 - 170  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$  a nasycení kyslíkem bylo v rozmezí 5 – 8  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Každá nádrž byla opatřena vnitřním molitanovým filtrem, přívodem čistého kyslíku a částečně zatemněna. Nádrže byly pravidelně třikrát týdně čistěny, přičemž při každém čištění docházelo k odkalení detritu ze dna a výměně přibližně 50% objemu vody. Ryby se pravidelně dva až třikrát denně krmily. Jako potrava byla rybám podávána sušená směs od firmy Coppens Cyprico orange jedenkrát denně a dále mražené patentky doplněné o živou nitěnku. Krmeno bylo přibližně 5 % z objemu biomasy v nádrži.

#### **3.2. Experimentální ryby**

Do experimentu bylo zařazeno 50 ks mlíčáků a 40 ks jikernaček trnovce hřebenočelého (průměrná váha těla:  $105 \pm 30$  g), 4 - 5 let staré původem z Jižní Ameriky zakoupené u firmy Profi - Aquarium (Roman Papík, Dříteč). Experimentální ryby jsou zobrazeny na obr.č.5.

#### **3.3. Použité chemické přípravky**

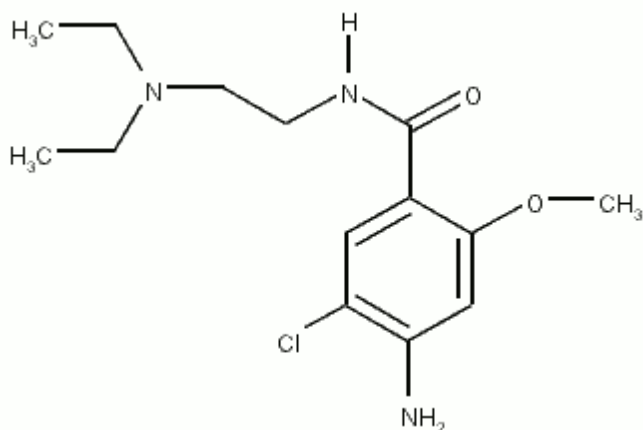
##### **mGnRHa**

Savčí analog GnRH (pGlu – His – Trp – Ser – Tyr - D-Ala – Leu – Arg – Pro-NH<sub>2</sub>) byl zakoupen od firmy Bachem AG (Švýcarsko). Před samotnou aplikací bylo nutné

mGnRHa rozpustit a zároveň naředit na požadovanou koncentraci v lidském fyziologickém roztoku (0,9% NaCl).

### Metoclopramide hydrochloride

Metoclopramide hydrochloride (Sigma) je tuhý a ve vodě rozpustný dopaminergní inhibitor, který se ve farmacii běžně využívá k tlumení nevolností a zvracení. Před aplikací bylo nutné metoclopramid rozpustit v lidském fyziologickém roztoku a smísit s roztokem mGnRHa o požadované koncentraci. Strukturální vzorec metoclopramidu je zobrazen na obr.č.4.



**Obr.č.4:** Strukturální vzorec metoclopramidu.

### Fyziologický roztok

K aplikaci hormonálních preparátů byl využíván fyziologický roztok zakoupený od společnosti Fresenius Kabi (Itálie). Jednalo se o 0,9% sterilní vodní roztok chloridu sodného.

### Imobilizační roztok

K odběru spermatu byl využíván imobilizační roztok, který inhibuje pohyb spermií a uchovává jejich fertilitu minimálně po dobu několika hodin. Imobilizační roztok byl v složení 200 mM NaCl, 30 mM Trisu a pH 7.0.

Sperma trnovce hřebenočelého bylo odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 1 ml, ve kterých bylo přibližně 0,2 ml imobilizačního roztoku. Poměr imobilizačního roztoku a spermatu nepřesáhl poměr 2 : 0,9.

### 3.4. Umělý výtěr

V průběhu roku 2012 a 2013 byly uskutečněny dva pokusy s hormonálně indukovaným výtěrem trnovce hřebenočelého. Předvýtěrová příprava na experiment č.1 spočívala v postupném (2 - 3 týdny před umělým výtěrem) zvyšování teploty z 26 °C na 29,5 °C, při experimentu č.2 se teplota nezvyšovala (26 °C). Rybám byla k běžnému krmivu navíc jako potrava předkládána i živá nitěnka. Před hormonální injikací byly ryby náhodně rozděleny do 4 skupin po 10 kusech (Experiment č.1) a do 4 skupin po 6 kusech (Experiment č.2). Experiment č. 1 a experiment č. 2 se od sebe lišily jen v teplotě vody (29,5 °C vs. 26 °C), ve které byly umístěny experimentální ryby. Před samotnou injikací byly ryby šetrně odloveny z nádrží a individuálně zváženy. Jikernačkám byly přípravky injikovány intraperitoneálně, zatímco samci byli injikováni intramuskulárně. Hormonální přípravky se injikovaly podle následujícího schématu:

**Skupina A:** mGnRHa v dávce 20  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Bachem, Švýcarsko)

**Skupina B:** metoclopramide hydrochloride v dávce 20mg  $\cdot \text{kg}^{-1}$  (Sigma)

**Skupina C:** mGnRHa (20  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + metoclopramide hydrochloride (20mg  $\cdot \text{kg}^{-1}$ )

**Skupina D:** fyziologický roztok (0,9% NaCl)

Při všech experimentech byla injikace prováděna v nočních hodinách, vždy přibližně ve 24.00 hodin. Osm hodin po aplikaci hormonálního přípravku bylo u ryb v 30 minutových intervalech kontrolováno dosažení ovulace a spermiace. Jikernačka se považovala za ovulující pokud pouštěla jikry v důsledku mírného manuálního tlaku na dutinu břišní. Pokud byly ryby připravené k umělému výtěru, šetrně se odlovily z nádrží a byly opět individuálně zváženy. Výtěr probíhal tzv. suchou metodou. Před výtěrem byla rybám otřena břišní partie, aby se voda z povrchu těla nedostala k pohlavním produktům. Nejprve se do jednorázových injekčních stříkaček naplněných imobilizačním roztokem odebíralo sperma mlíčáků (Obr.č.7), kteří poté byli vráceni zpět do nádrže. Jikernačky byly

vytírány do čistých suchých misek. Jikernačky se vytíraly nízko nad miskou tak, aby se jikry pádem z výšky nepoškodily (Obr.č.8). Po výtěru všech jikernaček se do misek s jikrami přidalo získané mlíčí spolu s imobilizačním roztokem. Jemně se pohlavní produkty promíchaly, přilila se voda a opět se pohlavní produkty zamíchaly (Obr. č.9). Po 2 - 3 minutách se přistoupilo k proplachování jiker. Účelem bylo odstranění zbytků mlíčí, případných nečistot. Oplozené jikry byly rozděleny do misek a inkubovány ve vodní lázni, kde byla po celou dobu inkubace udržována teplota 29 °C.

### **3.5. Zpracování výsledků**

Veškeré zjištěné a naměřené údaje byly zaznamenávány do tabulek a následně zpracovány pomocí počítačového programu Microsoft Excel.

Byla vypočítána pracovní a relativní plodnost, délka časového intervalu od injikace do výtěru jikernaček, procento ovulujících jikernaček a index plodnosti. Pracovní plodnost byla vypočtena podílem hmotnosti získaných jiker z jedné jikernačky a hmotnosti jedné jikry. Výsledky indexů plodnosti byly získány podílem průměrné hmotnosti vytřených jiker a průměrnou hmotností jikernaček.

Měření velikosti jiker probíhalo pomocí optické soustavy Olympus binokulární lupa (Olympus SZX 9) s digitálním fotoaparátem. Digitální obrázky byly dále zpracovány softwarem na analýzu obrazu (MicroImage version 3.0.1.).

Naměřené velikosti jiker před a po hydrataci byly statisticky provnány pomocí t-testu. Rozdíly byly uznány signifikantními při  $P < 0.05$ . Naměřené hodnoty jsou prezentovány jako průměr  $\pm$  střední chyba průměru.

## 4. Výsledky

### 4.1. Experiment č. 1

Při teplotě vody 29,5 °C ve skupinách A, B a D nedocházelo k žádné ovulaci. Ve skupině C, které byla podána kombinace mGnRHa a metoclopramidu došlo k ovulaci u 60 % injikovaných jikernaček. Průměrná délka intervalu latence byla u skupiny C  $10,3 \pm 0,6$  hodiny. Relativní plodnost jikernaček byla  $331\,025 \pm 47\,508 \text{ ks} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Velikost jiker nebyla v průběhu tohoto experimentu měřena z důvodu nedostupnosti binokulární lupy. Index plodnosti byl u tohoto experimentu 13,8. Dosažené výsledky jsou přehledně zobrazeny v Tab.č.5.

### 4.2. Experiment č. 2

Experiment č. 2 probíhal při nižší teplotě vody než experiment č. 1. Při teplotě vody 26 °C u skupin A, B a D neovulovaly žádné jikernačky stejně tak, jako u prvního experimentu. U skupiny C ovulovalo 50 % injikovaných jikernaček. Průměrná délka latence byla u skupiny C  $13,7 \pm 0,7$  hodin a relativní plodnost jikernaček byla  $408\,561 \pm 34\,934$ . Plodnostní index byl na úrovni 15,35. Získané výsledky jsou přehledně uvedeny v Tab.č.4.

**Tab.č.4:** Výsledky experimentu č. 1 s hormonálně indukovaným výtěrem trnovce hřebenočelého.

Skupina	Ošetření	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček (g)	Interval latence (h)	Velikost jiker před hydratací (μm)	Index plodnosti (%)	Relativní plodnost (ks · kg <sup>-1</sup> )
		injikovaných	ovulujících					
A	[D-Ala <sup>6</sup> , Pro <sup>9</sup> , NEt]-mGnRH (20 μg · kg <sup>-1</sup> )	10	0	99 ± 15	-	-	-	-
B	Metoclopramid (20 mg · kg <sup>-1</sup> )	10	0	120 ± 39	-	-	-	-
C	[D-Ala <sup>6</sup> , Pro <sup>9</sup> , NEt]-mGnRH (20 μg · kg <sup>-1</sup> ) + metoclopramid (20 mg · kg <sup>-1</sup> )	10	6*	109 ± 24	10,3 ± 0,6	-	13,8	331 025 ± 47 508
D	Fyziologický roztok (0.9 % NaCl)	10	0	100 ± 30	-	-	-	-

- \* indikuje signifikantní rozdíl



**Tab.č.5:** Výsledky experimentu č. 2 s hormonálně indukovaným výtěrem trnovce hřebenočelého.

Skupina	Ošetření	Počet jikernaček		Hmotnost jikernaček (g)	Interval latence (h)	Velikost jiker před hydratací (μm)	Index plodnosti (%)	Relativní plodnost (ks · kg <sup>-1</sup> )
		injikovaných	ovulujících					
A	[D-Ala6, Pro9, NEt]-mGnRH (20 μg · kg <sup>-1</sup> )	6	0	105 ± 20	-	-	-	-
B	Metoclopramid (20 mg · kg <sup>-1</sup> )	6	0	95 ± 46	-	-	-	-
C	[D-Ala6, Pro9, NEt]-mGnRH (20 μg · kg <sup>-1</sup> ) + metoclopramid (20 mg · kg <sup>-1</sup> )	6	3*	115 ± 40	13,7 ± 0,7	1175 ± 70	15,35	408 561 ± 34 934
D	Fyziologický roztok (0.9 % NaCl)	6	0	103 ± 36	-	-	-	-

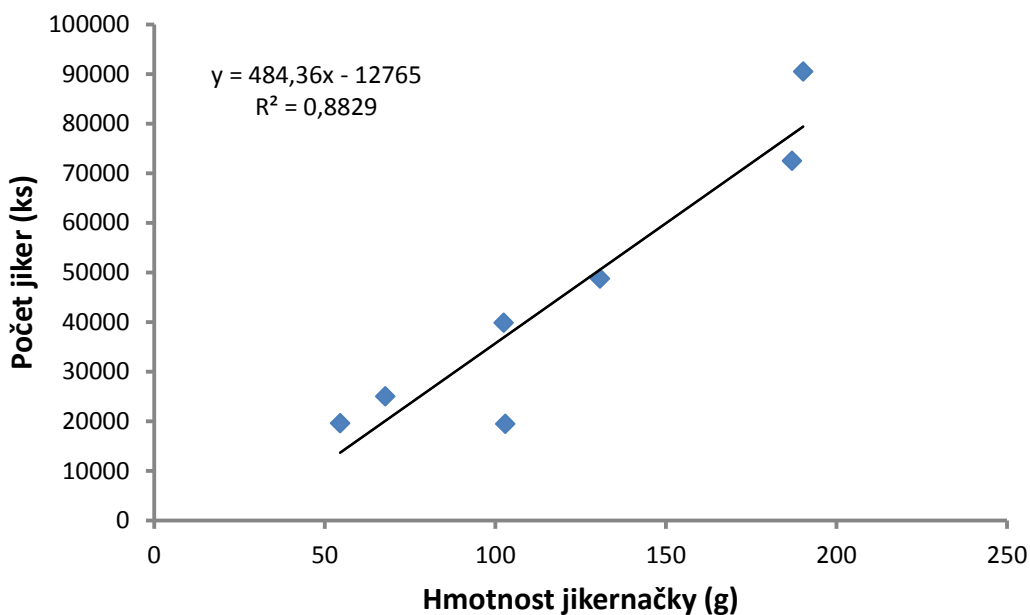
- \* indikuje signifikantní rozdíl

### 4.3. Hodnocení pohlavních produktů

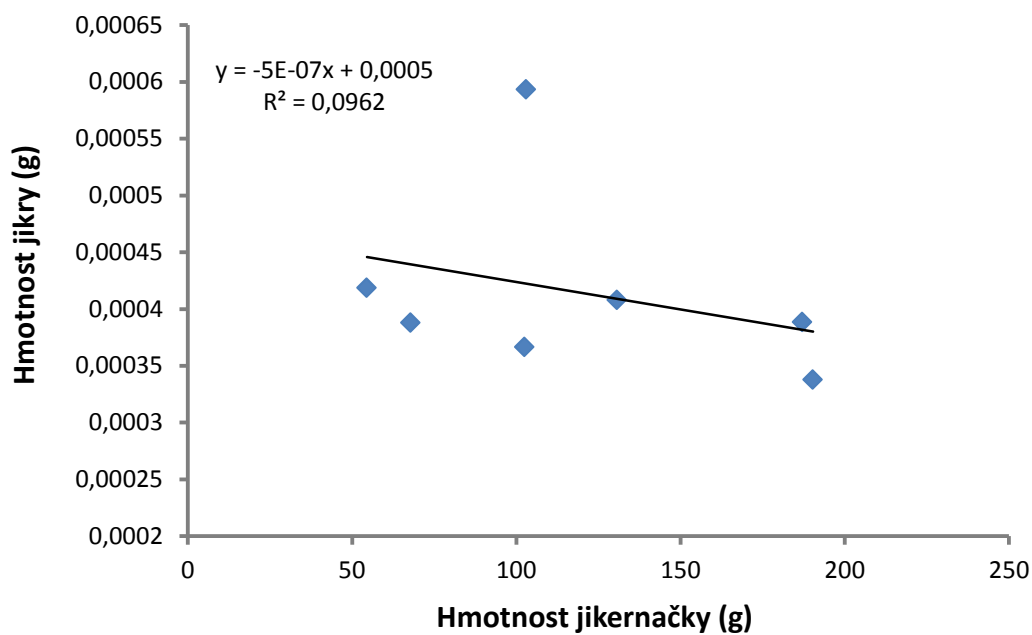
Relativní plodnost u vytřených jikernaček trnovce hřebenočelého kolísala v rozpětí 188 834 – 475 989 ks jiker · kg<sup>-1</sup>, zatímco pracovní plodnost všech jikernaček dosahovala rozmezí 19 450 – 90 438 ks jiker. Z grafu č. 1 vyplývá pozitivní závislost pracovní plodnosti na hmotnosti vytřené jikernačky.

Průměrná hmotnost jedné vytřené jikry trnovce hřebenočelého se pohybovala v rozmezí 0,0005933 - 0,0003378 g a průměrná hmotnost jedné jikry mírně klesá se zvyšující se hmotností jikernačky. Průměrná hmotnost jedné jikry v závislosti na hmotnosti jikernačky je zobrazena v Grafu č.2.

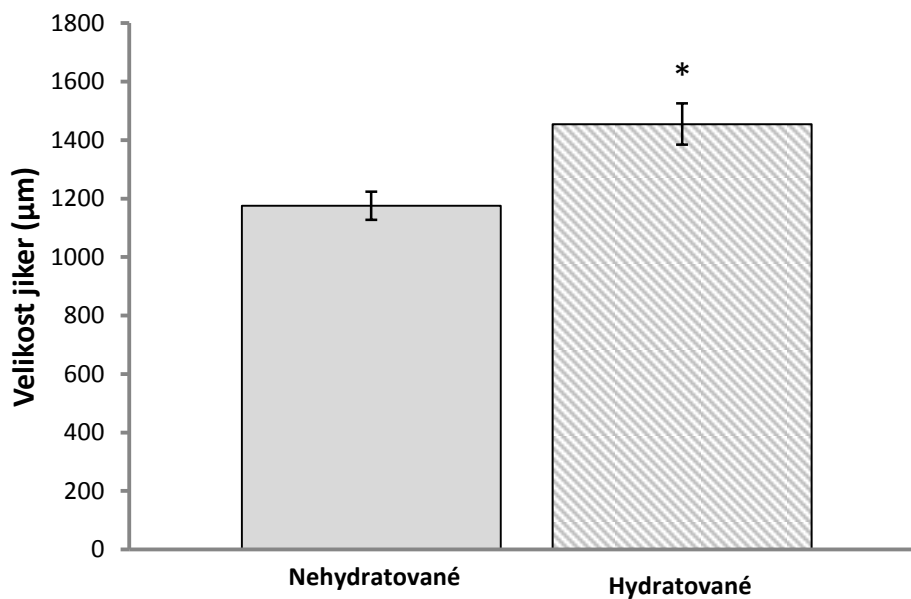
Velikost jiker trnovce hřebenočelého byla 1454 ± 48 μm před hydratací a po hydrataci se velikost jiker zvýšila na 1454 ± 48 μm. Porovnání velikosti jiker před a po hydrataci je zobrazen v Grafu č.3. Detail jikry trnovce hřebenočelého je znázorněn na obr.č.10.



**Graf č.1:** Pozitivní závislost počtu jiker na hmotnosti jikernačky trnovce hřebenočelého.



**Graf č.2:** Průměrná hmotnost jedné jikry v závislosti na hmotnosti jikernačky.



**Graf č.3:** Porovnání velikosti jiker před a po hydrataci (\* indikuje signifikantní rozdíl  $P < 0,05$ ).

## 5. Diskuse

V současné době je kombinace GnRHa a dopamin inhibitoru široce rozšířenou hormonální terapií u druhů patřících do řádů Cypriniformes a Siluriformes (De Leeuw a kol., 1985; Goos a kol., 1997; Richter a kol., 1987; Legendre a kol., 1996; Szabó a kol., 2002). Účinnost této hormonální léčby je ovšem velmi variabilní v závislosti na druhu léčené ryby a místních podmínkách (Zohar a Mylonas, 2001). Efekt hormonální terapie je ovlivněn teplotou vody, světelným režimem, fází vývoje pohlavních žláz a úrovní napodobení podmínek, ve kterých se daný druh přirozeně vyskytuje (Zohar a kol., 2010).

Cílem námi provedené studie bylo vyhodnocení síly dopamin inhibice na sekreci LH a optimalizace hormonální indukce ovulace u trnovce hřbenočelého. U skupin bez hormonálního ošetření v podobě GnRHa s metoclopramidem nedošlo k ovulaci u žádné z jikernaček. Na druhé straně se jako nejúčinnější postup k vyvolání ovulace (50 – 60 %) a spermiace u trnovce hřbenočelého ukázala kombinace mGnRHa a dopamin inhibitoru (metoclopramid). Podobného výsledku bylo dosaženo i u sumička štíhlého (*Hemibagrus nemurus*). U tohoto druhu také nebyla indukce samotným GnRHa účinná a jeho účinnost byla zvýšena až kombinací s dopamin inhibitorem (Adebiyi a kol., 2013). Peter a kol. (1991) jako první poukázali na fakt, že nedostatečný účinek samotného GnRHa stimulovat FOM a ovulaci je u mnohých druhů ryb způsoben silnou dopamin inhibicí předovulačního vzrůstu hladiny LH. Vyvinuta byla tzv. metoda Linpe představující simultání aplikaci GnRHa s dopamin inhibitorem. Metoda Linpe je metoda sloužící k vyvolání ovulace a spermiace u druhů ryb vyznačujících se silnou dopamin inhibicí LH sekrece (Lin a kol., 1986). Silná dopamin inhibice LH sekrece byla zaznamenána u některých sumců jako je keříčkovec dvoupásý (Alok a kol., 2000) nebo keříčkovec červenolemý (*Clarias gariepinus*) (Mylonas a Zohar, 2001). U sumička amurského byla k indukci ovulace použita kombinace GnRHa ( $20\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) s dopamin inhibitorem domperidon ( $10\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Po užití této kombinace se průměrná úspěšnost indukce ovulace u sumička amurského pohybovala v rozmezí 67 – 77 % (Wang a kol., 2010). U sumce velkého bylo po aplikaci přípravku ovopel (GnRHa a metoclopramid) dosaženo dokonce až 100% ovulace (Brzuska, 2003).

Další experiment proběhl na jiném jihoamerickém anténovci tygřím, kdy během tohoto pokusu byl rybám podán kanadský přípravek ovaprim, který obsahuje sGnRH a dopaminergní inhibitor (domperidon). Ovaprim byl jikernačkám podán intraperitoneálně o množství  $0,5\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$  ve dvou dávkách. Výsledky studie ukazují na 74% úspěšnost při hormonální stimulaci ovulace (Nuñez a kol., 2008). Obdobného výsledku bylo dosaženo u peřovce očkatého (*Synodontis ocellifer*), kdy po aplikaci kombinovaného přípravku bylo dosaženo 60 % ovulace u jikernaček (Hill a kol., 2009). U pangase dolnookého (*Pangasianodon hypophthalmus*) bylo díky kombinaci GnRHa a dopamin inhibitoru docíleno 62 % ovulace (Hill a kol., 2009). Oproti tomu se zdá, že dopamin inhibice úplně chybí nebo je velmi nízká u druhu losos kisuč (*Oncorhynchus kisutch*) (Van Der Kraak a kol., 1987) a u většiny komerčně významných mořských druhů ryb (Zohar a Mylonas 2001). I přesto, že u některých druhů ryb jako je např. pajejn bílý (*Parabramis pekinensis*) a sekavec tajvanský (*Paramisgurnus dabryanus*) není dopamin inhibice dominantní, doporučuje se k zesílení vlivu GnRHa použít jeho kombinaci s dopaminergním inhibitorem (Peter a kol., 1993; Zohar a Mylonas 2001). Je známo, že síla dopamin inhibice se mění v průběhu reprodukčního cyklu a pravděpodobně je nejnižší v období tření (Linard a kol., 1995). Dalším možným vysvětlením, proč u skupiny A nedocházelo k ovulaci je fakt, že u některých druhů dokonce ani aplikace dvou dávek GnRHa k vyvolání ovulace nestačí a je zapotřebí aplikace tří a více dávek (Zohar a Mylonas 2001).

Vyšší účinnost kombinace GnRHa a metoclopramidu ve srovnání s ostatními hormonálními přípravky je potvrzena i u keříčkovce egyptského (*Heterobranchus longifilis*) (Brzuska a Adamek, 2008). Při použití hypofyzace u sumce velkého, dosahovala úspěšnost na úroveň 50 %, s užitím přípravků obsahující GnRHa se míra ovulace zvýšila na 70 – 80 % a v případě aplikace kombinovaných přípravků až 85 % (Kouřil a kol., 1996). Citované práce naznačují, že aplikace kombinace GnRHa a metoclopramidu je přinejmenším stejně účinná nebo účinnější než hypofyzace a podání GnRHa s dopamin inhibitorem má za následek, vyšší procento ovulujících jikernaček, vyšší hmotnost jiker a lepší oplozenost (Brzuska, 2001).

V době před injekční aplikací hormonálních přípravků byla u jikernaček zjištěna bledá a nezduřelá močopohlavní papila. Rybám, které pozitivně reagovaly na hormonální

přípravek postupně močopohlavní papila zduřila a zarudla. U ryb, u kterých se močopohlavní papila nezvětšila a nezarudla většinou k ovulaci nedocházelo. Po hormonálním ošetření, ryby zůstaly klidné a pohybovaly se v dolní části akvária. Velmi podobné chování je popsáno také u keříčkovce egyptského (Brzuska a Adámek, 2008).

Někteří autoři se v průběhu experimentů s kombinovanými přípravky na bázi GnRHa s dopamin inhibitorem potýkali s problémem nezosynchronizované ovulace, kdy jednotlivé jikernačky ovulovaly s velkými časovými rozestupy (Kozłowski, 1994; Peter a kol., 1993; Brzuska a Adámek, 1999; Kouřil a kol., 1996). V průběhu našich experimentů se však tyto problémy nevyskytovaly a všechny jikernačky ovulovaly téměř ve stejném čase. Úspěšná synchronizace ovulace je možná pouze v případě, že všechny stimulované jikernačky vykazují stejný stupeň zralosti pohlavních žláz v době léčby (Brzuska, 2003).

Experiment č. 1 a experiment č. 2 se od sebe navzájem lišily pouze teplotou vody (26 °C vs. 29,5 °C), ve které byly ryby chovány. Z výsledků obou experimentů nejsou patrné žádné velké rozdíly týkající se procenta ovulujících jikernaček, pracovní plodnosti, relativní plodnosti či indexu plodnosti. K velmi podobnému závěru došel i Phelps a kol. (2007), který zkoumal vliv teploty na ovulaci sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*). Při experimentech probíhajících v teplotách vody 24 a 26 °C nebyly u sumečka tečkovaného pozorovány žádné výrazné rozdíly v procentu ovulujících jikernaček či relativní plodnosti.

Z výsledků našich experimentů je patrná přímá závislost délky latence na teplotě vody. Délka intervalu latence u experimentu č. 1 probíhajícího při teplotě vody 29,5 °C byla signifikantně kratší ( $10,3 \pm 0,59$  hodiny) než délka intervalu latence ( $13,7 \pm 0,7$  hodiny) při experimentu č. 2, který se uskutečnil při chladnější teplotě vody (26 °C). U ryb jakožto exotermických organismů ovlivňuje teplota vody rychlost bazálního metabolismu, jehož přímým následkem je i rozdílná rychlost odezvy organismu na hormonální intervenci při různých teplotách (Harvey a Hoar, 1979). Právě teplota je jedním z klíčových faktorů, které ovlivňují, kdy a pokud vůbec dojde k ovulaci a každý rybí druh má svůj specifický rozsah teplot, který je pro dosažení ovulace nejvhodnější (Horváth, 1978). Statisticky průkazná závislost intervalu latence na teplotě vody byla zjištěna např. sekavky nádherné (*Chromobotia macracanthus*) (Legendre a kol., 2012), keříčkovce žabího (*Clarias batrachus*) (Sahoo a kol., 2007), sumečka tečkovaného (Phelps a kol., 2007). Při experimentech na sumičku amurském, které probíhaly při teplotách vody 24 – 25 °C bylo

dosaženo intervalu latence na úrovni  $17,1 \pm 0,8$  h (Wang a kol., 2010). Během pokusů probíhajících při teplotě  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) byla po aplikaci GnRHa spolu s metoclopramidem zjištěna doba latence 14 h (Drori a kol., 1994). Interval latence se u pangase dolnookého po ošetření kombinovaným přípravkem Ovaprim (sGnRHa plus domperidone) pohyboval v rozmezí 5 - 11 hodin při teplotě vody  $29,4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Phelps a kol., 2007). Samotná délka intervalu latence je kromě teploty vody rovněž ovlivněna druhem ryby a typem aplikovaného hormonálního přípravku (Wang a kol., 2010).

Zjištěná relativní plodnost u experimentu č. 1 byla  $331\ 025 \pm 47\ 508$  kusů jiker  $\cdot\text{ kg}^{-1}$  hmotnosti jikernačky. U experimentu č. 2 relativní plodnost mírně vzrostla na hodnotu  $408\ 561 \pm 34\ 935$  kusů jiker  $\cdot\text{ kg}^{-1}$  hmotnosti jikernačky. Průměrná pracovní plodnost při experimentu č. 1 byla  $41\ 410 \pm 12\ 147$  kusů jiker, zatímco u experimentu č. 2 se pracovní plodnost mírně zvýšila na  $49\ 952 \pm 21\ 073$  kusů jiker. Námi zjištěný výsledek je vyšší ve srovnání se Schaeferem (2004), který uvádí, že plodnost trnovce hřebenočelého je přibližně 20 000 kusů jiker. Nicméně tento autor neupřesnil, zda se jedná o plodnost pracovní, či je tato plodnost vztažena k určité hmotnostní jednotce. U příbuzného trnovce mramorovaného (*Franciscodoras marmoratus*) se průměrná pracovní plodnost pohybuje v rozmezí  $21\ 813 \pm 12\ 611$  (Weber a kol., 2011). Podobného výsledku jako u trnovce mramorovaného bylo dosaženo i u neotropického sumce druhu *Pseudopimelodus charus* (české jméno nemá), kde zjištěná pracovní plodnost odpovídala rozpětí 24 640 - 134 176 ks jiker (Sampaio a Sato, 2006). Vysoké rozdíly v absolutní plodnosti byly pozorovány u anténovky nejpodivnější (*Rhamdia quelen*), u které byla potvrzena absolutní plodnost na úrovni 16 750 - 79 886 kusů jiker (Sampaio a Sato, 2006). Je prokázáno, že množství jiker je druhově specifické a je závislé na typu reprodukční strategie (Sato a kol., 1998).

Získané jikry byly diskovitého tvaru, s čímž souhlasí i Schaefer (2004). Barva jiker byla žlutá, jikry byly pokryté vrstvou silně lepivého ochranného slizu. Podobné vlastnosti jiker byly charakterizovány i u příbuzného trnovce mramorovaného (Weber a kol., 2012). Zbarvení jiker je způsobeno přítomností karotenoidových pigmentů a je výraznou mírou ovlivněno skladbou konzumované potravy (Balon, 1990). Ochranná vrstva slizu na jikrách je charakteristická pro téměř všechny druhy řádu Siluriformes (Rizzo a kol., 2002)

a zjištěna byla i u jiker zástupců řádů Perciformes, Cypriniformes a Cyprinodontiformes (Riehl a Patzner, 1998).

Průměrná velikost jiker trnovce hřebenočelého před hydratací byla  $1,1 \pm 0,07$  mm a po hydrataci  $1,4 \pm 0,04$  mm. U příbuzného trnovce mramorovaného byla zjištěná podobná velikost jiker  $1,27 \pm 0,4$  mm (Weber a kol., 2012). Velikost jiker neotropických sumců se pohybuje v rozmezí od 0,95 mm u anténovce paranánského (*Pseudoplatystoma corruscans*) (Marques a kol., 2008) až po 4,36 mm u krunýřovce ternetziho (*Hypostomus ternetzi*) (Suzuki a kol., 2000). U brazilského trnovčíka přilbového (*Trachelyopterus galeatus*) velikost jiker před hydratací odpovídala  $2.3 \pm 0.1$  mm a  $3.3 \pm 0.1$  mm po hydrataci (Santos a kol., 2013). Nehydratované jikry trnovčíka přilbového mají průměrnou velikost 2,3 mm a po hydrataci se jejich velikost zvětší na 3,4 mm (Sampaio a Sato, 2006). Rozdíly ve velikosti jiker jsou druhově specifické a souvisejí s množstvím nahromaděného žloutku a typem reprodukční strategie daného druhu (Sato a kol., 1998).

Po umělém oplodnění, byla při všech experimentech zjištěna relativně nízká oplozenost a velmi špatná líhivost. Někteří autoři (Bromage a kol., 1992; Migaud a kol., 2004; Rime a kol., 2004) tvrdí, že nízká oplozenost a špatná životaschopnost potomstva může být způsobena negativním vlivem řízených podmínek v chovu generačních ryb. Nízká míra úspěšnosti v oplození a inkubaci jiker je často způsobována nevyhovující kvalitou vody pro daný druh. Náročnost na fyzikálně - chemické vlastnosti vody v průběhu oplození a inkubace se liší v závislosti na druhu ryby (Godinho a kol., 2010). Jednotlivé vzorky oplozených jiker byly inkubovány v široké škále vod o různém chemickém složení. Teplota vody byla při oplozování a inkubaci v rozpětí 26,0 – 30,3 °C a měrná vodivost vody se u jednotlivých opakování pohybovala v rozpětí 50 – 150  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$  a pH v rozmezí 5,6 – 7,8. Nicméně ani v jednom vzorku jiker nebylo dosaženo uspokojivých výsledků s maximální dosažení líhivosti na úrovni 5 %. U příbuzného trnovce mramorovaného bylo oplození a inkubace prováděna při teplotě vody 26°C, vodivosti 55 - 68  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$  a pH 6,6 – 7,4. Z výsledků tohoto experimentu vychází poměrně vysoká úspěšnost 74 % (Weber a kol., 2010). U neotropického *Leporinus elongatus* (české jméno nemá) bylo oplozování a inkubace prováděno při teplotě vody 23 – 25 °C, vodivosti 50 - 80  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$  a pH 6 - 6,5. Výsledkem tohoto experimentu byla 28% úspěšnost (Sato a kol., 2000). Vliv na oplozenost



a inkubaci jiker má také iontové složení vody. Největší význam z hlediska oplozenosti a inkubace mají ionty  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^+$ ,  $\text{Na}^+$  (Alderdice, 1988). Míra vlivu iontového složení vody na oplozenost a inkubaci jiker je ovšem závislá na druhu ryby (Redondo a kol., 1991). Domníváme se, že problémy způsobující nízkou oplozenost a problémy při inkubaci tkví právě v kvalitě vody, které jsou jikry vystaveny.

Na vysokou odolnost vůči stresu a mechanickému poranění u trnovce hřebenočelého poukazuje nulová post experimentální mortalita generačních ryb. Na všeobecně nízkou mortalitu u ryb po použití hormonální terapie ve formě GnRHa a dopamin inhibitoru poukazuje rovněž i Hill (2009).

Předložená bakalářská práce byla navržena tak, aby odpověděla na otázku, zda je u trnovce hřebenočelého přítomná dopamin inhibice LH sekrece a ovulace a tím zároveň napomohla k identifikaci optimální formy hormonální indukce ovulace u tohoto trnovce. Získané výsledky jasně poukazují na silnou dopamin inhibici u tohoto druhu bez ohledu na teplotu vody. Z provedených experimentů vyplývá, že jako nevhodné pro indukci ovulace a spermiace u trnovce hřebenočelého se jeví aplikace samotného GnRHa či samotného metoclopramidu. Oproti tomu nejúčinnějším způsobem hormonální terapie pro tento druh na základě našich výsledků je kombinace GnRHa a dopamin inhibitoru. Experimentem byly ověřeny účinky této kombinace na vyvolání ovulace a spermiace s následným umělým výtěrem trnovce hřebenočelého.

## 6. Závěr

Z dosažených výsledků vyplývá, že nejúčinnější způsob k vyvolání ovulace u trnovce hřbenočelého je použití mGnRHa v kombinaci s dopaminergním inhibitorem metoclopramid. Použití této kombinace přineslo 50 resp. 60% úspěšnost vyvolání ovulace. Ve srovnání s tím, při použití samotného mGnRHa či samotného metoclopramidu nebyla pozorována žádná úspěšnost na vyvolání ovulace.

Experimentálně byl také potvrzen vliv teploty vody na délku intervalu od injekce do ovulace. Při teplotě vody 29,5 °C byla průměrná délka intervalu  $10,3 \pm 0,59$  hodin. Ve srovnání s druhým experimentem, který probíhal při teplotě vody 26 °C byla délka intervalu latence  $13,7 \pm 0,7$  hodin.

Relativní plodnost jikernaček u prvního experimentu byla  $331\,025 \pm 47\,508$  ks · kg<sup>-1</sup>. U druhého experimentu byla zjištěna relativní plodnost  $408\,561 \pm 39\,934$  ks · kg<sup>-1</sup>. Zjištěná velikost jiker před hydratací byla  $1,1 \pm 0,07$  mm a po hydrataci se velikost jiker zvětšila na  $1,4 \pm 0,04$  mm.

Jedním z cílů bakalářské práce byla i snaha posoudit vliv chemismu vody na embryogenezi a vymezit fyzikálně - chemické podmínky pro inkubaci jiker a odchov raných ontogenetických stádií tohoto druhu. U všech provedených experimentů byla zjištěna velmi špatná oplozenost a problémy během inkubace jiker. Tyto problémy jsou pravděpodobně způsobeny nevyhovujícími fyzikálně – chemickými vlastnostmi vod, kterým byly jikry vystaveny. Překážka nízké oplozenosti a inkubace tak zanechává v problematice reprodukce trnovce hřbenočelého prostor pro další zkoumání a bádání.

Na Závěr lze konstatovat, že vzhledem k silné dopamin inhibici na sekreci LH se jako nejvhodnější způsob k vyvolání ovulace u trnovce hřbenočelého ukázalo použití kombinace GnRHa a dopamin inhibitoru.

## 7. Přehled použité literatury

- Abraham, M., 1988: Recent trends in research on induced spawning of fish in aquaculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 4, 49-64.
- Adams, B. A., Tello, J. A., Erchegeyi, J., Warby, C., Hong, D. J., Akinsanya, K. O., Mackie, G. O., Vale, W., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2003: Six novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate, *Ciona intestinalis*. *Endocrinology*, 144, 1907-1919.
- Adams, B. A., Vickers, E. D., Warby, C., Park, M., Fischer, W. H., Grey Craig, A., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2002: Three forms of gonadotropin - releasing hormone, including a novel form, in a basal salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biology of reproduction*, 67, 232-239.
- Adebiyi, F. A., Siraj, S. S., Harmin, S. A., Christianus, A., 2013: Effects of GnRHa on Plasma Sex Steroid Hormones of River Catfish *Hemibagrus nemurus* (Valenciennes 1840). *Sains Malaysiana*, 42, 635-642.
- Aida, K., 1988: A review of plasma hormone changes during ovulation in cyprinid fishes. *Aquaculture*, 74, 11-21.
- Alderdice, D. F. (1988). Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. *Fish physiology*, 11, 163-251.
- Alok, D., Talwar, G. P., Garg, L. C., 2000: In vivo activity of salmon gonadotropin releasing hormone (GnRH), its agonists with structural modifications at positions 6 and 9, mammalian GnRH agonists and native cGnRH-II on the spawning of an Indian catfish. *Aquaculture International*, 7, 383-392.
- Arantes, F. P., Borçato, F. L., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2013: Reproduction and embryogenesis of the mandi-amarelo catfish, *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae), in captivity. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 42, 30-39.
- Baileyová, M., Sandfordová, G., 1998: Svět akvarijských ryb: ryby sladkovodní, brakických vod a mořské. Svojtka & Co, 128.
- Balon, E. K., 1990: Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyology Reviews*, 1, 1-42.

- Barbaro, A., Francescon, A., Bertotto, D., Bozzato, G., Di Maria, I., Patarnello, P., Furland, F., Colombo, L., 2002: More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 192-199.
- Bentley, P. J., 1998: *Comparative Vertebrate Endocrinology*. Melbourne, Cambridge University Press, New York, 313-315.
- Billard, R., 1986: Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement*, 26, 877-920.
- Blomenröhr, M., Goos, H., Bogerd, J., Eidne, K., Willars, G., 2005: GnRH receptors in fish: Differences in structure-function relations between mammalian and non-mammalian GnRH receptors. *Hormones And Their Receptors In Fish Reproduction*, 4, 40.
- Blomenröhr, M., Ter Laak, T., Kuh, R., Bayermann, M., Hund, E., Bogerd, J., Leurs, R., 2002: Chimaeric gonadotropin-releasing hormone (GnRH) peptides with improved affinity for the catfish (*Clarias gariepinus*) GnRH receptor. *Biochemical Journal*, 361, 515-523.
- Bogerd, J., Li, K. W., Janssen-Dommerholt, C., Goos, H., 1992: Two gonadotropin-releasing hormones from African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biochemical and biophysical research communications*, 187, 127-134.
- Bone, Q., Marshall, N. B., 1982: *Biology of Fishes*. Academic Press, San Diego, 99-134.
- Bosma, P. T., Rebers, F. E., Van Dijk, W., Willems, P. H., Henk, J. T., Schulz, R. W., 2000: Inhibitory and stimulatory interactions between endogenous gonadotropin-releasing hormones in the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biology of reproduction*, 62, 731-738.
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, 100, 141-166.
- Bruton, M. N., 1996: Alternative life-history strategies of catfishes. *Aquatic Living Resources*, 9, 35-41.
- Brzuska E., Adamek J., 1999: Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.; stimulation of ovulation using LHRHa, Ovaprim and carp pituitary extract. *Aquaculture Research*, 30, 59-64.

- Brzuska, E. 2001: Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. *Aquaculture Research*, 32, 11-19.
- Brzuska, E., 1999: Artificial spawning of herbivorous fish: use of an LHRH-a to induce ovulation in grass carp *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, 30, 849-856.
- Brzuska, E., 2003: Artificial propagation of European catfish (*Silurus glanis*): application of a single dose of pellets containing D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>NEt-mGnRH and dopamine inhibitor metoclopramide to stimulate ovulation in females of different body weight. *Czech Journal of Animal Science*, 48, 152-163.
- Brzuska, E., Adamek, J., 2008: Artificial spawning of African catfish *Heterobranchus longifilis*: differences between the effects on reproduction in females treated with carp pituitary homogenate or Ovopel. *Aquaculture Research*, 39, 96-102.
- Burgess, W., 1989: An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the Siluriformes. Tfh Publication Inc, 784.
- Cardinaud, B., Gilbert, J. M., Liu, F., Sugamori, K. S., Vincent, J. D., Niznik, H. B., Vernier, P., 1998: Evolution and origin of the diversity of dopamine receptors in vertebrates. *Advances in Pharmacology*, 42, 936-940.
- Carolsfeld, J., Powell, J. F., Park, M., Fischer, W. H., Craig, A. G., Chang, J. P., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2000: Primary structure and function of three gonadotropin-releasing hormones, including a novel form, from an ancient teleost, herring. *Endocrinology*, 141, 505-512.
- Cyr, D. G., Eales, J. G., 1996: Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 6, 165-200.
- De Leeuw, R., Habibi, H. R., Nahorniak, C. S., Peter, R. E., 1989: Dopaminergic regulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor activity in the goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Endocrinology*, 121, 239-247.
- De Leeuw, R., Resink, J. W., Rooyackers, E. J. M., Goos, H. J., 1985: Pimozide modulates the luteinizing hormone - releasing hormone effect on gonadotrophin release in the African catfish, *Clarias lazera*. *General and comparative endocrinology*, 58, 120-127.

- Donaldson, E. M., 1996: Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science*, 42, 381-392.
- Donaldson, E. M., 2003: Controlling piscine reproduction: past, present and future. *Aquaculture: Retrospective and Outlook - An Aquaculture Summit*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines and World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 99–108.
- Drahotušský, Z., Novák, J., 2000: *Akvaristika*, Brno, Nakladatelství Jota, 298.
- Drori, S., Ofir, M., Levavi-Sivan, B., Yaron, Z., 1994: Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119, 393-407.
- Dubois, E. A., Zandbergen, M. A., Peute, J., Goos, H. J. 2002: Evolutionary development of three gonadotropin-releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. *Brain research bulletin*, 57, 413-418.
- Dufour, S., Sebert, M. E., Weltzien, F. A., Rousseau, K., Pasqualini, C., 2010: Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. *Journal of Fish Biology*, 76, 129-160.
- Dufour, S., Weltzien, F. A., Sebert, M. E., Le Belle, N., Vidal, B., Vernier, P., Pasqualini, C. 2005: Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1040, 9–21.
- Elson, G., Lucanus, O., 2003: *Catfish: Everything About Natural History, Purchase, Health Care, Breeding, and Species Identification*. Barron's Educational Series, 96.
- Epler, P., Bieniarz, K., 1989: Gonad maturation and hormonal stimulation of spawning in the wels (*Silurus glanis* L.). *Polish Archives of Hydrobiology*, 36, 417-429.
- Fernald, R. D., White, R. B., 1999: Gonadotropin-releasing hormone genes: phylogeny, structure, and functions. *Frontiers in neuroendocrinology*, 20, 224-240.
- Fijan, N., 1975: Induced spawning, larval rearing and nursery operations *Silurus glanis*. EIFAC Technical Papers, 25, 130-138.
- Fink, G., 1988: Gonadotropin secretion and its control. *The physiology of reproduction*, 1, 1349-1377.
- Fontenele, O., 1952: Notas sobre os órgãos adesivos dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 12, 363-368.

- Fontenele, O., 1955: Injecting pituitary (hypophyseal) hormones into fish to induce spawning. *The Progressive Fish-Culturist*, 17, 71–75.
- Forniés, M. A., Carrillo, M., Mañanós, E., Sorbera, L. A., Zohar, Y., Zanuy, S., 2003: Relative potency of the forms of GnRH and their analogs on LH release in sea bass. *Journal of fish biology*, 63, 73-89.
- Frank, S., 1984: *Akvaristika*. Práce, Praha, s. 368
- Franke, H. J., 1985: *Handbuch der Welskunde*, Urania-verlang, Berlin. s. 335.
- Galacatos, K., Barriga-Salazar, R., Stewart, D. J., 2004: Seasonal and habitat influences on fish communities within the lower Yasuni River basin of the Ecuadorian Amazon. *Environmental Biology of Fishes*, 71, 33-51.
- Godinho, A. L., Lamas, I. R., Godinho, H. P., 2010: Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 87, 143-162.
- Goetz, F. W., 1983: Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. *Fish physiology*, 9, 117-170.
- Goetz, F. W., Berndtson, A. K., Ranjan, M. U. K. U. L., 1991: Ovulation: mediators at the ovarian level. *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, 4, 127-185.
- Goos, H. T., Bosma, P. T., Bogerd, J., Tensen, C. P., Li, K. W., Zandbergen, M. A., Schulz, R. W., 1997: Gonadotropin-releasing hormones in the African catfish: molecular forms, localization, potency and receptors. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17, 45-51.
- Guilgur, L. G., Moncaut, N. P., Canario, A. V., Somoza, G. M., 2006: Evolution of GnRH ligands and receptors in gnathostomata. *Comparative Biochemistry and Physiology: Molecular & Integrative Physiology*, 144, 272-283.
- Harvey, B. J., Hoar, W. S., 1979: *The theory and practice of induced breeding in fish*. International Development Research Center, 48.
- Hasler, A. D., Meyes, R. K., Field, H. M., 1940: The use of hormones for the conservation of muskellunge, *Esox masquinongy immaculatus* Garrard. *Copeia*, 1940, 43–46.
- Helfman G. S., Collette B. B., Facez D. E., 2000: *The Diversity of Fishes*, Blackwell Science, 528.

- Higuchi, H., Birindelli, J. L., Sousa, L. M., Britski, H. A. 2007: *Merodoras nheco*, new genus and species from Rio Paraguay basin, Brazil (Siluriformes, Doradidae), and nomination of the new subfamily Astrodoradinae. *Zootaxa*, 1446, 31-42.
- Hill, J. E., Kilgore, K. H., Pouder, D. B., Powell, J. F., Watson, C. A., Yanong, R. P., 2009: Survey of ovaprim use as a spawning aid in ornamental fishes in the United States as administered through the University of Florida Tropical Aquaculture Laboratory. *North American Journal of Aquaculture*, 71, 206-209.
- Hofmann, J., Novák, J., 1996: *Akvaristika: Jak chovat tropické ryby jinak a lépe*. Praha. X-Egem - Nova, 197.
- Hoorn, C., Wesselingh, F., 2006: *Amazonia, landscape and species evolution: A look into to the past*. Blackwell publishing. 464.
- Horváth, L., 1978: Relation between ovulation and water temperature by farmed cyprinids. *Aquacultura Hungarica*, 1, 58–65.
- Horváth, L., Tamas, G., 1976: A harcsa (*Silurus glanis* L.) szaporitas es az ivadelőnevelese. *Halaszat*, 2, 11-13.
- Hotchkiss, J., Knobil, E., 1994: The menstrual cycle and its neuroendocrine control. *The physiology of reproduction*, 2, 711-749.
- Chang, J. P., Jobin, R. M. Wong, A. O. L., 1993: Intracellular mechanisms mediating gonadotropin and growth hormone release in the goldfish, *Carassius auratus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 11, 25–33.
- Chang, J. P., Peter, R. E., Crim, L. W., 1984: Effects of dopamine and apomorphine on gonadotropin release from the transplanted pars distalis in goldfish. *General and comparative endocrinology*, 55, 347–350.
- Chen, C., Fernald, R. D., 2008: GnRH and GnRH receptors: distribution, function and evolution. *Journal of Fish Biology*, 73, 1099-1120.
- Jelínek, P., Koudela, K., Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., 2003: *Fyziologie hospodářských zvířat*. MZLU Brno, 1, 414.
- Kah, O., Lethimonier, C., Somoza, G., Guilgur, L. G., Vaillant, C., Lareyre, J. J., 2007: GnRH and GnRH receptors in metazoa: a historical, comparative, and evolutive perspective. *General and comparative endocrinology*, 153, 346-364.



- Katzman, P. A., Doisy, E. A., 1932: Preparation of extracts of the anterior pituitary - like substance of urine of pregnancy. *Journal of Biological Chemistry*, 98, 739–754.
- Kawauchi, H., Suzuki, K., Itoh, H., Swanson, P., Naito, N., Nagahama, Y., Nozaki, M., Nakai, Y., Itoh, S., 1989: The duality of fish gonadotropins. *Fish Physiol. Biochem.*, 7, 29 -38
- Kebabian, J. W., Calne, D. B., 1979: Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277, 93–96.
- Kime, D. E., 1993: Classical and non-classical reproductive steroids in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 3, 160-180.
- King, J. A., Millar, R. P., 1995: Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Cellular and molecular neurobiology*, 15, 5-23.
- Kobayashi, M., Aida, K., Hanyu, I., 1989: Involvement of steroid hormones in the preovulatory gonadotropin surge in female goldfish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7(1), 141-146.
- Kouřil J., Barth T., 1981: The achievement of egg ovulation in artificial spawning of tench (*Tinca tinca* L.) using LH-RH. *Bul. VÚRH Vodňany*, 17, 13–18.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Linhart, O., Barth, T., Glubokov, A. I., Haffray, P., 1996: Induced ovulation of European catfish (*Silurus glanis*) by carp pituitary, GnRH analogue and/or dopamine inhibitor isofloxythepin. *Zivočišná Výroba-UZPI*, 41.
- Kozłowski B., 1994: Practice of hormonal stimulation of Cyprinidae reproduction. IRS, Zakład Upowszechniania Postępu. Broszura Wdrożeniowa, 162, 1-41.
- Kraak, G. V. D., Donaldson, E. M., Dye, H. M., Hunter, G. A., Rivier, J. E., Vale, W. W., 1987: Effects of Mammalian and Salmon Gonadotropin-Releasing Hormones and Analogues on Plasma Gonadotropin Levels and Ovulation in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44, 1930-1935.
- Le Bail, P. Y., Keith P., Planquette, P., 2000: Atlas des poissons d'eau douce de Guyane. Collection Patrimoines Naturels, 43.
- Le Gac, F., Blaise, O., Fostier, A., Le Bail, P. Y., Loir, M., Mourot, B., Weil, C., 1993: Growth hormone (GH) and reproduction: a review. *Fish Physiology and Biochemistry*, 11, 219-232.
- Legendre, M., Linhart, O., Billard, R., 1996: Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *Aquatic Living Resources*, 9, 59-80.

- Legendre, M., Satyani, D., Subandiyah, S., Pouyaud, L., Baras, E., Slembrouck, J., 2012: Biology and culture of the clown loach *Chromobotia macracanthus* (Cypriniformes, Cobitidae): 1-Hormonal induced breeding, unusual latency response and egg production in two populations from Sumatra and Borneo Islands. *Aquatic Living Resources*, 1.
- Lethimonier, C., Madigou, T., Muñoz-Cueto, J. A., Lareyre, J. J., Kah, O., 2004: Evolutionary aspects of GnRHs, GnRH neuronal systems and GnRH receptors in teleost fish. *General and comparative endocrinology*, 135, 1-16.
- Levavi-Zermonsky, B., Yaron, Z., 1986: Changes in gonadotropin and ovarian steroids associated with oocytes maturation during spawning induction in the carp. *General and comparative endocrinology*, 62, 89-98.
- Lin, H. R., Van Der Kraak, G., Liang, J. Y., Peng, C., Li, G. Y., Lu, L. Z., Zhou, X. J., Chang, M. L., Peter, R. E., 1986: The effects LHRH analogue and drugs which block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China. *Aquaculture of Cyprinids*. INRA, Paris, 39–150.
- Linard, B., Bennani, S., Saligaut, C., 1995: Involvement of estradiol in a catecholamine inhibitory tone of gonadotropin release in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and comparative endocrinology*, 99(2), 192-196.
- Linhart, O., Billard, R., 1994: Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *Journal of applied ichthyology*, 10, 182-188.
- Lundberg, J. G., Sabaj Pérez, M. H., Dahdul, W. M., Aguilera, O. A., 2010. The Amazonian Neogene fish fauna. *Amazonia: Landscape and Species Evolution: A look into the past*, 281-301.
- Machado-Allison, A., Sarmiento, J., Willink, P. W., Chernoff, B., Menezes, N., Ortega, H., Bert, T., 1999: Diversity and abundance of fishes an habitats in the Rio Tahuamanu and Rion Manuripi basins (Bolivia). *Acta Biologica Venezuelica*, 19, 17-50.
- Mañanós, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2009: Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. *Methods in reproductive aquaculture. Marine and Freshwater Species*, CRC Press, Boca Raton, 3-80.

- Marques, C., Nakaghi, L. S. O., Faustino, F., Ganeco, L. N., Senhorini, J. A., 2008: Observation of the embryonic development in *Pseudoplatystoma coruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) under light and scanning electron microscopy. *Zygote*, 16, 333.
- Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M., Arimura, A., Schally, A. V., 1971: Structure of the porcine LH- and FSH- releasing hormone I. The proposed amino acid sequence. *Biochemical and biophysical research communications*, 43, 1334–1339.
- Mayland, H. J., 1998, *Sladkovodní akvárium*. Euromedia Group, 144.
- Migaud, H., Fontaine, P., Kestemont, P., Wang, N., Brun-Bellut, J., 2004: Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, 241, 561-574.
- Migita, M., Matsumoto, J., Kinoshita, H., Sasaki, A., Ashikawa, I., 1952: Studies on the hypophyseal hormone of fish: I. Stimulating effect upon ovulation of trout. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of fish*, 17, 25–31.
- Miyamoto, K., Hasegawa, Y., Nomura, M., Igarashi, M., Kangawa, K., Matsuo, H., 1984: Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81, 3874–3878.
- Montaner, A. D., Park, M. K., Fischer, W. H., Craig, A. G., Chang, J. P., Somoza, G. M., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2001: Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone in the brain of a teleost, Pejerrey. *Endocrinology*, 142, 1453–1460.
- Moyer, G. R., Burr, B. M., Krajewski, C., 2004: Phylogenetic relationships of thorny catfishes (Siluriformes: Doradidae) inferred from molecular and morphological data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 140, 551-575.
- Moyle, W. R., Campbell, R. K., Myers, R. V., Bernard, M. P., Han, Y., Wang, Y., 1994: Co-evolution of ligand-receptor pairs. *Nature*, 368, 251–255.
- Mylonas C. C., Zohar Y., 2001: Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 463–491.
- Mylonas, C. C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010: Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and comparative endocrinology*, 165, 516-534.

- Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2007. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. *The Fish Oocyte*, 437-474.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Tokumoto, T., Katsu, Y., 1995: 4 Regulation of Oocyte Growth and Maturation in Fish. *Current topics in developmental biology*, 30, 103-145.
- Navas, J. M., 1995: Do gonadotrophin-releasing hormone neurons express estrogen receptors in the rainbow trout? A double immunohistochemical study. *Journal of Comparative Neurology*, 363, 461-474.
- Nelson, J. S., 2006. *Fishes of the world*. Wiley, 265-268.
- Nogueira, L. B., Azevedo, P. G., Canelhas, M. R., Bedore, A. G., Lopes, J. M., Godinho, H. P., 2012: Induced spawning and early ontogeny in hatchery-reared catfish *Zungaro jahu* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology*, 10, 89-98.
- Nunez, J., Dugué, R., Corcuay Arana, N., Duponchelle, F., Renno, J. F., Raynaud, T., Legendre, M., 2008: Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. *Aquaculture Research*, 39, 764-776.
- Ohta, H., Tanaka, H., 1997: Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin (hCG) and 11-ketotestosterone after a single injection of hCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 153(1), 123-134.
- Okubo, K., Nagahama, Y., 2008: Structural and functional evolution of gonadotropin-releasing hormone in vertebrates. *Acta Physiologica*, 193, 3-15.
- Pankhurst, N. W., Stacey, N. E., 1985: The effect of 17 $\beta$ -estradiol on spontaneous ovulation in the goldfish, *Carassius auratus*. *Canadian journal of zoology*, 63, 2979-2981.
- Pankhurst, N. W., Thomas, P. M., 1998: Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture*, 166, 166-177.
- Patiño, R., 2003: Role of arachidonic acid and protein kinase C during maturation-inducing hormone-dependent meiotic resumption and ovulation in ovarian follicles of Atlantic croaker. *Biology of Reproduction*, 68, 516-523.
- Pechová, M., 1998. *Sladkovodní akvarijní ryby*. Svojtka & Co, 32-33.

- Peter, R. E., Lin, H. R., Van Der Kraak, G., 1988: Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: Advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonist. *Aquaculture*, 74, 10.
- Peter, R. E., Lin, H. R., Van Der Kraak, G., Little, M., 1993: Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. *Recent Advances in Aquaculture*, 4, 25–30.
- Peter, R. E., Yu, K. L., 1997: Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 173-197.
- Peter, R. R., Trudeau V. L., Soley B. D., 1991: Brain regulation of reproduction in teleosts. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica*, 16, 89-118.
- Phelps, R. P., Hastey, R., Pendetar, A., Linley, L., Papanikos, N., Dunham, R. A., 2007: Effects of temperature on the induced spawning of channel catfish and the production of channel × blue catfish hybrid fry. *Aquaculture*, 273, 80-86.
- Podhorec, P., Kouřil, J., 2009: Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. *Veterinarní Medicína*, 54, 97-110.
- Powell, J. F., Zohar, Y., Elizur, A., Park, M., Fischer, W. H., Craig, A. G., Rivier, J. E., Lovejoy, D. A., Sherwood, N. M., 1994: Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 12081–12085.
- Rainis, S., Ballestrazzi, R., 2005: The control of reproduction in finfish species through GnRH treatments. *Italian Journal of Animal Science*, 4, 345—353.
- Redondo-Müller, C., Cosson, M. P., Cosson, J., Billard, R., 1991: In vitro maturation of the potential for movement of carp spermatozoa. *Molecular reproduction and development*, 29, 259-270.
- Reis, R. E., Kullander, S. O., Ferraris, C. J., 2003: Check list of the freshwater fishes of South and Central America. *Edipucrs*, 729.
- Riehl, R., Patzner, R. A., 1998: Minireview: the modes of egg attachment in teleost fishes. *Italian Journal of Zoology*, 65, 415-420.
- Richter, C. J. J., Viveen, W. J. A. R., Eding, E. H., Sukkel, M., Rothuis, A. J., Van Hoof, M. F. P. M., Van Oordt, P. G. W. J., 1987: The significance of photoperiodicity, water temperature and an inherent endogenous rhythm for the production of viable eggs by the African catfish,

- Clarias gariepinus*, kept in subtropical ponds in Israel and under Israeli and Dutch hatchery conditions. *Aquaculture*, 63, 169-185.
- Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B., 2004: Post-ovulatory ageing and egg quality: a proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reprod Biol Endocrinol*, 2.
- Rizzo, E., Sato, Y., Barreto, B. P., Godinho, H. P., 2002: Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 61, 615-632.
- Sahoo, S. K., Giri, S. S., Chandra, S., Sahu, A. K., 2007: Spawning performance and egg quality of Asian catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction. *Aquaculture*, 266, 289-292.
- Sampaio, E. V., Sato, Y., 2006: Biologia reprodutiva e desova induzida de duas espécies de bagres (Osteichthyes: Siluriformes) da bacia do rio São Francisco. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 28, 263–268.
- Santos, H. B., Arantes, F. P., Sampaio, E. V., Sato, Y., 2013: Artificial reproduction and reproductive parameters of the internally inseminated driftwood catfish *Trachelyopterus galeatus* (Siluriformes: Auchenipteridae). *Ichthyological Research*, 1-7.
- Sato, Y., Fenerich-Verani, N., Verani, J. R., Godinho, H. P., Sampaio, E. V., 1998. Induced reproduction and reproductive characteristics of *Rhinelepis aspera* Agassiz, 1829 (Osteichthyes: Siluriformes, Loricariidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 41.
- Sato, Y., Fenerich-Verani, N., Verani, J. R., Vieira, L. J., Godinho, H. P., 2000: Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val. under captive breeding. *Aquaculture Research*, 31, 189-193.
- Sealfon, S. C., Weinstein, H., Millar, R. P., 1997: Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Endocrine reviews*, 18, 180-205.
- Senthilkumaran, B., Joy, K. P., 1995: Changes in hypothalamic catecholamines, dopamine  $\beta$  hydroxylase, and phenylethanolamine-N-transferase in the catfish, *Heteropneustes fossilis*, in relation to season, raised photoperiod, and temperature, ovariectomy, and estradiol-17 $\beta$  replacement. *General and Comparative Endocrinology*, 97, 121–134.

- Sherwood, N. M., Parker, D. B., McRory, J. E., Lescheid, D. W., 1994: Molecular evolution of growth hormone-releasing and gonadotropin-releasing hormone. *Fish Physiology*, Academic Press, 3-66.
- Sherwood, N., Eiden, L., Brownstein, M., Spiess, J., Rivier, J., Vale, W., 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80, 2794-2798.
- Schaefer, C., 2004: *Das große Lexikon der Aquaristik*, Bind 1. Ulmer Verlag.
- Sioli, H., 1984: The Amazon and its main effluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. Pp. 127-166. In: H. Sioli (Ed.). *The Amazon, Limnology and landscape ecology of a mighty Tropical river and its basin*. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, 761.
- Sterba, G., 1987: *Süßwasserfische der Welt*. Urania Verlag, 914.
- Steven, C., 2000: Studies on the GnRH–GtH system of female striped bass (*Morone saxatilis*): effects of GnRH agonist therapy and comparison of reproductive endocrine parameters between wild and captive fish. *Marine Estuarine and Environmental Sciences*. University of Maryland, College Park.
- Steven, C., Gothilf, Y., Holland, M. C., Stubblefield, J., Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2000: Differential expression of the three GnRH genes in wild and captive striped bass, *Morone saxatilis* in response to natural and hormonally induced maturation. In *International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, 6.
- Suzuki, H. I., Agostinho, A. A., Winemiller, K. O., 2000: Relationship between oocyte morphology and reproductive strategy in loricariid catfishes of the Paraná River, Brazil. *Journal of Fish Biology*, 57, 791-807.
- Szabó, T., Medgyasszay, C., & Horváth, L., 2002: Ovulation induction in nase (*Chondrostoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone. *Aquaculture*, 203, 389-395.
- Tamaru, C. S., Carlstrom Trick, C., FitzGerald, W. J., Ako, H., 1996: Induced final maturation and spawning of the marbled grouper *Epinephelus microdon* captured from spawning aggregations in the Republic of Palau, Micronesia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27, 363–372.

- Trudeau, V. L., 1997: Neuroendocrine regulation of gonadotrophin II release and gonadal growth in the goldfish, *Carassius auratus*. *Reviews of Reproduction*, 2, 55–68.
- Trudeau, V. L., Peter, R. E., 1995: Functional interactions between neuroendocrine systems regulating GTH-II release. *Reproductive Physiology of Fish*, 44-48.
- Van Der Kraak, G., Pankhurst, N. W., Peter, R. E., Lin, H. R., 1989: Lack of antigenicity of human chorionic gonadotropin in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture*, 78, 81—86.
- Van der Kraak, G., Suzuki, K., Peter, R. E., Itoh, H., Kawauchi, H., 1992: Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II. *General and comparative endocrinology*, 85, 217-229
- Von Ihering, R., 1937: A method for inducing spawning in fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 4, 15–16.
- Wang, Y., Hu, M., Cheung, S. G., Shin, P. K., Song, L., Wang, W., 2010: Induced ovulation of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) using a combination of a gonadotrop-releasing hormone analogue and domperidone. *Aquaculture Research*, 41, 1243-1249.
- Watanabe, W. O., Ellis, E. P., Ellis, S. C., Chaves, J., Manfredi, C., Hagood, R. W., Sparsis, M., Arneson, S., 1998: Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, 176–187.
- Weber, A., Sato, Y., Enemir Santos, J., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2012: Eggs Ultrastructure and Early Development of *Franciscodoras marmoratus* (Pisces: Doradidae). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 41, 177-183.
- Welcomme, R. L., 1969: The biology and ecology of the fishes of a small tropical stream. *Journal of Zoology*, 158, 485–529.
- White, R. B., Eisen, J. A., Kasten, T. L., Fernald, R. D., 1998: Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 305-309.
- Winemiller, K. O., 1996: Dynamic diversity: fish communities of tropical rivers. In *Long-term Studies of Vertebrate*, 99.
- Yaron, Z., 1995: Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129, 49–73.



- Yaron, Z., Gal, G., Melamed, P., Rosenfeld, H., Elizur, A., Levavi-Sivan, B., 2003: Regulation of fish gonadotropins. *International review of cytology*, 255, 131-185
- Yaron, Z., Levavi-Sivan, B., 2006: Fish reproduction. *Physiology of Fishes*, 345-388.
- Yu, K. L., Peter, R. E., 1992: Adrenergic and dopaminergic regulation of gonadotropin releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary *in vitro*. *General and Comparative Endocrinology*, 85, 138–146.
- Yu, K. L., Sherwood, N. M., Peter, R. E., 1988: Differential distribution of two molecular forms of gonadotropin-releasing hormone in discrete brain areas of goldfish (*Carassius auratus*). *Peptides*, 9, 625–630.
- Zohar, Y., 1988: Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. *Colloques de l'INRA* .
- Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J. A., Elizur, A., Kah, O., 2010: Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General and comparative endocrinology*, 165, 438-455.
- Zohar, Y., Mylonas, C. C., 2001: Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99-136.
- Zohar, Y., Pagelson, G., Gothilf, Y., Dickhoff, W. W., Swanson, P., Duguay, S., Gombotz, W., Kost, J., Langer, R., 1990: Controlled release of gonadotropin releasing hormones for the manipulation of spawning in farmed fish. In *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Material* , 17, 51-52.
- Zohar, Y., Tosky, M., Pagelson, G., Finkelman, Y., 1989: Induction of spawning in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, using [D-Ala<sup>6</sup>-Pro<sup>9</sup> NEt]-LHRH: comparison with the use of HCG. *The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 41, 105–113.
- Zukal, R. 1976: Akvariijní ryby. *Svépomoc*, 229

## 8. Seznam zkratek

cfGnRH	- Sumcový gonadotropin uvolňující hormon
cGnRH-II	- Kuřecí gonadotropin uvolňující hormon linie 1
DA	- Dopamin
E2	- Estradiol
FOM	- Finální zrání ovocytů
FSH	- Folikulostimulační hormon
GnRH	- Gonadotropin uvolňující hormon
GnRH-I	- 1. Skupina gonadotropin uvolňujícího hormonu
GnRH-II	- 2. Skupina gonadotropin uvolňujícího hormonu
GnRH-II	- 3. Skupina gonadotropin uvolňujícího hormonu
GnRH-R	- GnRH receptor
GPCR	- Receptory spřažené s G – proteinem
GtH	- Gonadotropní hormony
hCG	- Lidský choriogonadotropin
hgGnRH	- Sled'ový gonadotropin uvolňující hormon
LH	- Luteinizační hormon
mdGnRH	- Medakový gonadotropin uvolňující hormon
mGnRH	- Savčí gonadotropin uvolňující hormon
MIS	- Steroidy indukující dozrávání
PG	- Prostaglanginy
PGF	- Prostaglandiny řady F
sbGnRH	- Pražmová gonadotropin uvolňující hormon
SEM	- Střední chyba průměru
sGnRH	- Lososový gonadotropin uvolňující hormon
T	- Testosteron
wfGnRH	- Síhový gonadotropin uvolňující hormon

## 9. Seznam Příloh

**Obr.č.5:** Experimentální ryby v chovné nádrži.

**Obr.č.6:** Pohlavní dimorfismus trnovce hřebenočelého.

**Obr.č.7:** Odběr spermatu u trnovce hřebenočelého.

**Obr.č.8:** Umělý výtěr jikernačky trnovce hřebenočelého.

**Obr.č.9:** Aktivace pohlavních produktů vodou a následné promíchávání oplozených jiker.

**Obr.č.10:** Pohled na jikru trnovce hřebenočelého (20-ti násobné zvětšení).

## 10. Přílohy



**Obr.č.5:** Experimentální ryby v chovné nádrži.



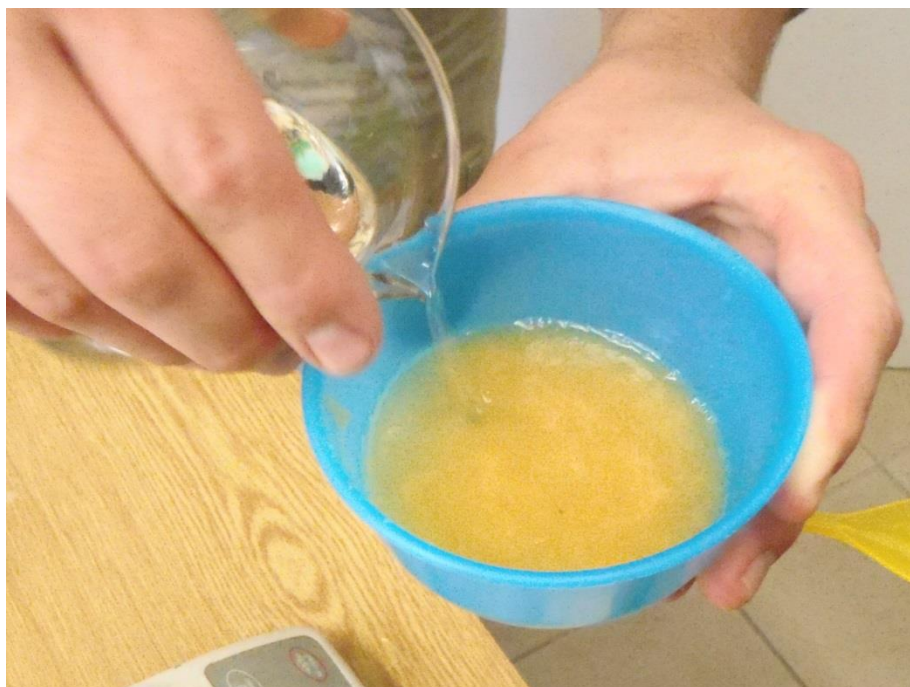
**Obr.č.6:** Pohlavní dimorfismus trnovce hřebenočelého.



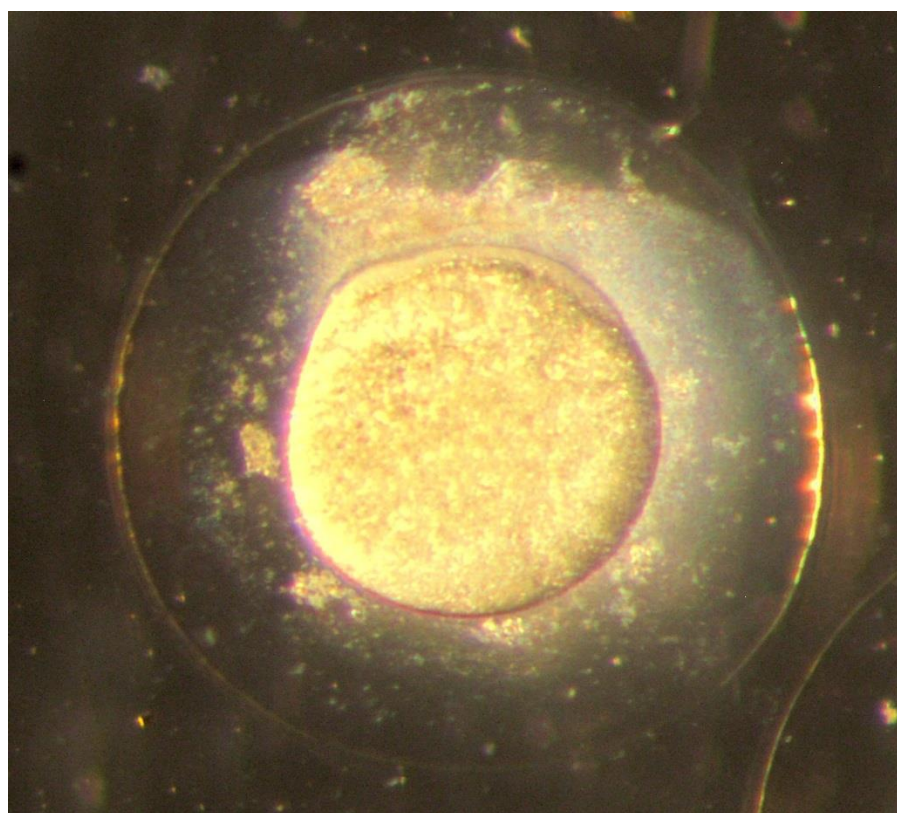
**Obr.č.7:** Odběr spermatu u trnovce hřebenočelého.



**Obr.č.8:** Umělý výtěr jikernačky trnovce hřebenočelého.



**Obr.č.9:** Aktivace pohlavních produktů vodou a následné promíchávání oplozených jiker.



**Obr.č.10:** Pohled na jikru trnovce hřebenočelého (20-ti násobné zvětšení)

## 11. Abstrakt

### Hormonální indukce ovulace trnovce hřebenočelého (*Agamyxis pectinifrons*)

Cílem bakalářské práce bylo zjistit optimální způsob hormonální indukce ovulace jikernaček trnovce hřebenočelého pomocí hormonálního přípravku, obsahující GnRHa s nebo bez dopamin inhibitoru metoclopramid. Dalším cílem této práce bylo vypracování literární studie o tomto druhu.

V průběhu roku 2012 a 2013 byly provedeny celkem 2 experimenty s hormonálně indukovaným výtěrem. Experimenty se od sebe lišili v teplotě vody 29,5 °C (experiment č. 1) vs. 26 °C (experiment č. 2). Při každém experimentu byly ryby rozděleny do 4 skupin. Skupina A byla injikována pouze mGnRHa ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), skupina B dopamin inhibitorem metoclopramid ( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), skupina C kombinací mGnRHa s metoclopramidem ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} + 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) a skupina D byla injikována pouze fyziologickým roztokem (0,9 % NaCl). V případě obou experimentů se podařilo ovulaci indukovat pouze u skupin injikovaných kombinací GnRHa s dopamin inhibitorem. U experimentu č. 1 se míra ovulace pohybovala na úrovni 60 %, relativní plodnost byla  $331\,025 \pm 47\,508 \text{ ks jiker} \cdot \text{kg}^{-1}$ , délka latence se pohybovala na úrovni  $10,3 \pm 0,6$  hodiny a index plodnosti byl stanoven na 13,8. Při experimentu č. 2. byla úroveň ovulace 50 %, relativní plodnost byla  $408\,561 \pm 34\,934 \text{ ks jiker} \cdot \text{kg}^{-1}$ , interval latence  $13,7 \pm 0,7$  hodiny, velikost nehydratovaných jiker byla na úrovni  $1\,454 \pm 48 \mu\text{m}$  a index plodnosti byl 15,35.

Výsledky experimentů ukazují na silnou dopamin inhibici sekreci LH u trnovce hřebenočelého a prokázaly, že kombinaci GnRHa s dopamin inhibitorem je možné úspěšně používat k indukci ovulace u trnovce hřebenočelého.

**Klíčová slova:** reprodukce; reprodukční dysfunkce; umělý výtěr; dopamin; GnRHa; Doradidae

## 12. Abstract

### **Hormonal induction of ovulation in whitebarred catfish (*Agamyxis pectinifrons*)**

The aims of presented work are reviewing of current knowledge about biology and artificial reproduction, evaluation of dopamine inhibition of LH secretion and identification of optimal hormonal treatment of ovulation in tropical whitebarred catfish.

Two trials were conducted in years 2012 and 2013. The experiments differed from each other only in the water temperature 29,5 °C (Experiment No.1) and 26 °C (Experiment No.2). In each experiment, the fish were divided into 4 groups. Group A was injected only with mGnRH $\alpha$  (20  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), group B was injected with dopamine inhibitor metoclopramide (20 mg  $\cdot \text{kg}^{-1}$ ), group C was injected with mGnRH $\alpha$  plus metoclopramide (20  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  + 20 mg  $\cdot \text{kg}^{-1}$ ) and group D was injected only with physiological saline (0,9 % NaCl). Ovulation occurred only in the groups injected with the combination of GnRH $\alpha$  and dopamine inhibitor, however in both experiments. In Experiment No.1, the ovulation rate was around 60%, relative fecundity was 331,025  $\pm$  47,508 eggs  $\cdot \text{kg}^{-1}$ , latency interval was at 10.3  $\pm$  0.6 hours and the fecundity index was determined at 13, 8. In Experiment No. 2 ovulation, the level of ovulation was 50%, relative fecundity was 408,561  $\pm$  34,934 pieces of eggs  $\cdot \text{kg}^{-1}$ , latency interval was 13.7  $\pm$  0.7 hours, non-hydrated oocytes had a mean diameter 1454  $\pm$  48  $\mu\text{m}$  and fecundity index was 15.35.

The results clearly show a strong inhibition of dopamine on LH secretion and show that the combination of GnRH $\alpha$  with dopamine inhibitor can be successfully used to induce ovulation in whitebarred catfish.

**Keywords:** reproduction, reproductive dysfunction, artificial propagation, dopamine, GnRH $\alpha$ , Doradidae