

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Vliv plemenné příslušnosti na hodnoty
hematologických parametrů u kapra obecného**

Autor: Bc. Alexandr Nádaský

Vedoucí diplomové práce: MVDr. Veronika Piačková, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.

Studijní program: Zemědělská specializace

Studijní obor: Rybářství a ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval(a) pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

České Budějovice, 25. 4. 2023

.....
Bc. Alexandr Nádaský

Poděkování

V první řadě bych rád srdečně poděkoval vedoucí mé diplomové práce MVDr. Veronice Piačkové, Ph.D., za jí vložený čas do vedení diplomové práce, odborné vedení, za její vstřícnost a obětavost. Rád bych také poděkoval své konzultantce MVDr. Elišce Zuskové, Ph.D. Obrovské díky patří i mé rodině, přítelkyni Petře Motlové, mým blízkým a přátelům neboť právě oni mi byli v rámci mých studijních let tou nejpevnější oporou.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Alexandr NÁDASKÝ
Osobní číslo: V21N009P
Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Rybářství a ochrana vod
Téma práce: Vliv plemenné příslušnosti na hodnoty hematologických parametrů u kapra obecného.
Zadávající katedra: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Zásady pro vypracování

Cílem práce je získat hodnoty parametrů červeného a bílého krevního obrazu kaprů několika vybraných plemen, respektive meziplemenných hybridů, chovaných ve standardních podmínkách laboratoře, a statisticky vyhodnotit rozdíly mezi skupinami.

Metodický postup:

Práce bude spočívat ve stanovení základních hematologických parametrů: počet červených a bílých krvinek, hodnota hematokritu, koncentrace hemoglobinu a diferenciální rozpočet bílých krvinek z krve plůdku kapra různých plemen a meziplemenných hybridů, chovaných ve stejných podmínkách. Statistickými metodami budou zjišťovány rozdíly mezi jednotlivými skupinami.

Kromě praktické části, jejímž výsledkem budou naměřené hodnoty a jejich statistické zpracování, by měla práce obsahovat teoretický úvod zabývající se vybranými plemeny kapra a dosud publikovanými fyziologickými rozdíly mezi rybami, ale i jinými zvířaty, téhož druhu rozdílných plemen, variet atd.

Rozsah pracovní zprávy: 50-90 stran
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Piačková, V., Palíková, M., Zusková, E., Flajšhans, M., 2014. Stanovení diferenciálního počtu leukocytů ryb. Edice Metodik, FROV JU, č. 160, 56 s. (certifikovaná metodika)
Svobodová, Z., Pravda, D., Modráh, H., 2012. Metody hematologického vyšetřování ryb, Edice Metodik, FROV JU, Vodňany č. 122, 38 s. (certifikovaná metodika)
Doubek, J. a kol., 2003. Veterinární hematologie. Brno, Noviko, 464 s.
Barbora Bílková, Zuzana Bainová, Jozef Jandab, Lukáš Zitac, Michal Vinkler, 2017. Different breeds, different blood: Cytometric analysis of whole blood cellular composition in chicken breeds. Veterinary Immunology and Immunopathology 188: 71-77.
Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture 500: 237-242.
Fazio, F., Saoca, C., Piccione, G., Kesbic, O.S., Acar, U., 2016. Comparative study of some hematological and biochemical parameters of Italian and Turkish farmed Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 16: 715-721.
Fazio, F., Saoca, C., Acar, U., Tezel, R., Celik, M., Yilmaz S., Kesbic, O.S., Yalgın, F., Yigit, M., 2020. Turkish Journal of Zoology 44: 22-30.
Kile, B.T., Mason-Garrison, C.L., Justice, M.J., 2003. Sex and strain-related differences in the peripheral blood cell values of inbred mouse strains. Mammalian genome 14: 81-85.
a další?

Vedoucí diplomové práce: **MVDr. Veronika Piačková, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant diplomové práce: **MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **21. ledna 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2023**


prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Zátiší 728/III
370 25 Vodňany (2)


prof. Ing. Tomáš Randák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 25. února 2022

Obsah

1. Úvod	9
2. Literární přehled	10
2.1. Problematika intenzifikujícího se chovu ryb	10
2.2. Kapr obecný (Cyprinus carpio L.)	12
2.2.1. Areál rozšíření	12
2.2.2. Morfologie	13
2.2.3. Výskyt, etologie a potravní nároky	13
2.2.4. Reprodukce	14
2.2.5. Nároky na prostředí	14
2.2.6. Produkce kapra ve světě a v ČR	15
2.3. Plemena kapra obecného chovaná na území ČR	15
2.3.1. Amurský sazan (AS)	15
2.3.2. Amurský lysec (AL)	16
2.3.3. Ropšinský kapr šupinatý (ROP)	18
2.3.4. Tatajský kapr šupinatý (TAT)	18
2.3.5. Syntetická linie maďarských lysců (HSM)	19
2.3.6. Kapr Koi	19
2.4. Hematologie ryb	21
2.4.1. Krev ryb (Sanquis)	21
2.4.2. Krevní plazma	22
2.4.3. Erytrocyty (Red Blood Cells; RBCs)	24
Počet erytrocytů (RBC)	25
Hematokritová hodnota (PCV)	25
Střední objem erytrocytu (MCV)	26
Hemoglobin erytrocytu (MCH)	27
Střední barevná koncentrace (MCHC)	27
2.4.4. Hemoglobin	27
Množství hemoglobinu (Hb)	28
2.4.5. Trombocyty	28
2.4.6. Leukocyty (White Blood Cells; WBCs)	30

Počet leukocytů (WBC)	30
Leukokritová hodnota (Lk)	31
Diferenciální rozpočet leukocytů (Leukogram)	32
Lymfocyty	32
Monocyty	33
Neutrofilní granulocyty	35
Eozinofilní granulocyty	36
Bazofilní granulocyty	36
Heterofilní granulocyty	37
Granulocytární vývojová řada	37
2.4.7. Krvetvorba ryb	38
Erytropoéza (tvorba a vývoj erytrocytů)	39
Leukopoéza (tvorba a vývoj leukocytů)	39
2.5. Stabilizace krve a metody využívané k jejímu odběru	39
2.5.1. Stabilizace krve	39
2.5.2. Metody odběru krve ryb	40
Odběr krve u jedinců do 8 g tělesné hmotnosti	41
Odběr krve u jedinců v rozmezí 8 – 20 g tělesné hmotnosti	41
Odběr krve u jedinců nad 20 g tělesné hmotnosti	42
2.6. Rozdíly hematologických parametrů mezi plemeny, liniemi a populacemi, zaznamenané u ryb a některých druhů teplokrevných živočichů	43
3. Materiál a metodika	46
3.1. Materiál	46
3.1.1. Průběh odchovu ryb	46
3.2. Metodika	47
3.2.1. Odlov ryb, určení plemenné příslušnosti a morfologické ohledání	47
3.2.2. Odběr vzorků krve	47
3.2.3. Metodiky stanovení ichthyohematologických parametrů	47
Stanovení počtu erytrocytů (RBC)	48
Stanovení hematokritu (PCV)	48
Stanovení hemoglobinu (Hb)	48
Stanovení hodnot MCV, MCH a MCHC	49
Stanovení počtu leukocytů (WBC)	49

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů	49
3.2.4. Statistické vyhodnocení výsledků	51
4. Výsledky	52
4.1. Porovnání hematologických parametrů mezi plemeny	52
4.2. Porovnání hematologických parametrů mezi skupinami ryb šupinatých a lysých	54
4.3. Porovnání hematologických parametrů mezi jedinci koi kapra a produkčními plemeny kaprů	56
5. Diskuze	58
6. Závěr	62
7. Přehled použité literatury	63
8. Seznam tabulek	74
9. Seznam grafů	74
10. Seznam obrázků	75
11. Seznam použitých zkratk	76
12. Abstrakt	77

1. Úvod

Cílem této diplomové práce je stanovit hodnoty základních hematologických parametrů a následně jejich vzájemným porovnáním zjistit a popsat případné rozdíly mezi vybranými plemeny kapra obecného (*Cyprinus carpio*), respektive mezi jejich meziplemennými hybridy, kteří jsou nejhojněji využíváni v rybníční akvakultuře na území České republiky, a koi kapra (*Cyprinus rubrofuscus*). Práce na toto téma dosud nebyla publikována a výsledky mohou položit základ rozsáhlejší studie o rozdílech v imunitní kompetenci jednotlivých plemen, což má do budoucna význam pro sestavování přirozeně odolnějších obsádek.

Téma práce jsem si zvolil na základě toho, že v dnešní době vnímám cílené šlechtění jako jednu z hlavních možností dalšího rozvoje a intenzifikace české, ale i světové akvakultury. Příkladem může být vyšlechtění nového plemene kapra obecného, amurský lysec, které vykazuje vyšší odolnost vůči nákaze koi herpes virem (CyHV-3). Dle Piačkové a kol. (2013) kumulativní mortalita plemene amurský lysec při experimentální infekci CyHV-3 dosáhla pouze 26,7 %, zatímco starší plemena, kupříkladu třeboňský šupinatý, vykazovala mortalitu až 80 %. Je zřejmé, že plemena či hybridy příbuzní primitivnímu kapru, známému jako amurský sazan, jsou oproti koi herpesviróze odolnější, a lze tak očekávat, že budou do budoucna hojněji využívána pro eliminaci kusových a finančních ztrát v produkčním rybníkářství (Piačková a kol., 2015). Se zřetelem na významnost tohoto druhu pro akvakulturu na území České republiky je dle mého názoru více než žádoucí věnovat se do budoucna produkci nových plemen, jež budou vykazovat uspokojivé výsledky v hodnocení produkčních faktorů a ukazatelů, ale budou též rezistentnější k nákazám limitujícím, až mnohdy ohrožujícím ziskovost chovů, respektive produkčních firem.

2. Literární přehled

2.1. Problematika intenzifikujícího se chovu ryb

V rámci posledních pěti desítek let můžeme pozorovat neustálou tendenci navyšování počtů chovaných druhů ryb, ale i jejich kusového množství v rámci polointenzivních a intenzivních akvakulturních systémů. Tento celosvětový trend je vyvoláván neustále vzrůstající poptávkou po rybím mase a výrobcích z něj. Dalším z motivů této tendence je i úsilí restringovat v dnešní době enormní odlov ryb z volných vod moří, řek a jezer (Woo a kol., 1995). Tento trend potvrzuje i zpráva Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů (FAO) z roku 2020. Mezi lety 1986 – 1995 bylo v akvakulturních systémech v průměru každoročně vyprodukováno 14,9 milionů tun ryb, zatímco v roce 2018 dosahovala celosvětová produkce ryb hodnot okolo 82,1 milionů tun ryb. Jedná se tedy o nárůst produkce o 451 %. Oproti tomu množství odlovených ryb z volných vod narostlo jen nepatrně. V tomto případě došlo k roku 2018 k nárůstu z 86,9 milionů tun na 96,4 milionů tun vylovených ryb za rok, tzn. zvýšení množství odlovených ryb o 10,9 %. (FAO, 2020). S rostoucí potřebou produkce ryb je vyvíjena snaha o vyšší účinnost chovných praktik a snižování nutných vstupů. Postupným vědeckým poznáním zásadních problematik je kladen důraz na stále nepatrnější detaily (Martins a kol., 2010; Kašparů a Jakobartl, 2015; Kouřil, 2015).

Dle Martinse a kol. (2010) je jedním z podstatných směrů výzkumu zlepšování a optimalizace fyzikálně-chemických vlastností vody a uzpůsobování odchovných technologií jednotlivým druhům ryb. Stejní autoři uvádí, že dalším krokem pro zefektivnění chovu ryb bude komplexnější využití automatizovaných procesů, robotizace a kybernetických řídicích systémů.

Nemalá pozornost je věnována oblasti krmivářství, které bude do budoucna čelit překážce v podobě nedostatku zdrojů rybí moučky, rybího tuku a vysoce nenasycených mastných kyselin (HUFA). Řešením tohoto problému by mohlo být využití makrořas, bakteriální biomasy a transgenních rostlin, které produkují vyšší množství vysoce nenasycených mastných kyselin (Olsen, 2011). Dle Van Rijna (2013) je v krmivářské oblasti také klíčové dosáhnout maximální možné konverze předkládaných krmiv, neboť

následně dojde ke snížení spotřeby krmiva a zároveň i znečištění vody, a tím i k poklesu provozních nákladů produkčních subjektů.

Neméně důležitá je technologie řízené reprodukce, zajišťující dostatek násadového materiálu díky synchronizaci ovulace oocytů nebo zlepšení procesu dozrávání a získávání spermií, či jiker od generačních jedinců (Peter a Yu, 1997; Blecha a kol., 2015).

S metodami umělé reprodukce je úzce spjata i metoda mimosezónních výtěrů. Hlavním účelem je zajištění násadového materiálu pro produkční subjekty s nepřetržitou produkcí ryb v tržní velikosti. Může tak docházet k maximalizaci odchovného potenciálu rybochovných zařízení v průběhu celého roku (Policar a kol., 2015).

Hybridizace je jednou z dalších hojně využívaných metod pro zlepšení produkčních výsledků. Nejvýznamnějším faktorem, který je hybridizací sledován, je navýšení užitkovosti hybridního potomka oproti jedincům rodičovské generace nebo zvýšení rezistence vůči konkrétním onemocněním (Pokorný a kol., 1995; Kocour, 2013; Piačková a kol., 2013). V dnešní době se převážně přistupuje ke křížení v rozsahu jednoho rybího druhu v rovině jednotlivých plemen, linií či konkrétních populací. Mezidruhové křížení se, až na specifické výjimky, v akvakultuře velmi nevyužívá (Kocour, 2013).

Indukované zmnožení chromozomových sad (polyploidie) je v rámci dnešní intenzivní akvakultury klíčovou znalostí. Polyploidizace se indukuje fyzikálními (tlakový, teplotní šok), či chemickými zásahy (vřetenkové jedy) ve fázi vývoje zygoty v jikře. Nejhojněji využívaný je proces, na jehož konci se líhnou juvenilní jedinci se třemi sadami chromozomů, tedy jedinci triploidní (Flajšhans a kol., 2013). Hlavními důvody využití $3n$ ryb v chovech jsou: častá sterilita; lepší růst v porovnání s $2n$ jedinci; redukce sexuálních a teritoriálních pudů - druhotné snížení úrovně stresu; vhodnější organoleptická kvalita rybí svaloviny (Piferrer a kol., 2009).

Z ekonomického hlediska produkčních subjektů je významnou metodou využívání monosexních populací ryb. Je jí využíváno u takových druhů ryb, kde jedno z pohlaví předčí rychlostí růstu, využitím krmiva, a tím i vyšší produkcí, pohlaví druhé (Rougeot

a Mélard, 2008; Piferrer a kol., 2009; Policar a kol., 2015). Nejčastěji je k těmto účelům používán postup nepřímé feminizace (Rougeot a Mélard, 2008; Policar a kol., 2009).

Podstatou úspěšného chovu, a tedy i ekonomické rentability, je dobrý zdravotní stav chovaných ryb (Kolářová a Svobodová, 2009). Proto je vyvíjeno významné úsilí směřující k poznání chorob a jejich původců, porozumění patologickým a zejména imunitním procesům, ale také k hledání možností prevence nemocí. Pozornost je věnována také výzkumu a vývoji léčiv, ale také postupům, které nutnost jejich použití minimalizují. Jako např. produkci rezistentních plemen a linií či technologickému zajištění lepších hygienických podmínek pro ryby (Woo a kol., 1995; Svobodová a kol., 2007; Kocour, 2013; Velíšek a kol., 2014).

2.2. Kapr obecný (*Cyprinus carpio* L.)

Třída: paprskoploutví (*Actinopterygii*)

Řád: máloostní (*Cypriniformes*)

Čeleď: kaprovití (*Cyprinidae*)

Rod: kapr (*Cyprinus*)

Druh: kapr obecný (*Cyprinus carpio*; Linnaeus, 1758)

2.2.1. Areál rozšíření

Nativními areály výskytu kapra obecného jsou již od pleistocénu úmoří Kaspického a Černého moře a toky přitékající do Aralského jezera (Berg, 1948; Kottelat a Freyhof, 2007). V rámci Evropy je za jediné povodí, kde je tento druh původní, považováno povodí Dunaje, a tudíž na území České republiky povodí Moravy (Balon, 1995a; Dubský a kol., 2003). Díky svým vlastnostem vhodným pro chov byl postupně rozšířen po celém světě. Dle Nakajima a kol. (2019) došlo k prvním pokusům cíleného chovu kapra člověkem již asi 6 000 let před naším letopočtem na území Číny v oblasti Chenan. Jedná se pravděpodobně o úplně nejstarší rybní druh, který byl podrobován některým vlivům domestikace (Wohlfarth, 1984; Balon, 1995b; 2006). V současné době je kapr rozšířen prakticky po celém světě. V některých lokalitách (např. Austrálie) je dokonce vnímán jako druh invazní (Dubský a kol., 2003). Dle Balona (1995b)

se poprvé mohl cíleně dostat kapr obecný na území nynější České republiky již v době starověkého Říma. Avšak dle Hanela a Luska (2005) první podložené zmínky o kapru na našem území pocházejí až z 11. století n. l.

2.2.2. Morfologie

Tělo adultních jedinců kapra obecného je robustní, po bocích mírně zploštělé a v dorzálních i ventrálních partiích vyklenuté. Hřbetní část je zpravidla tmavě zelená, či šedomodrá, boky přechází do žlutozelených barev a břišní partie je výhradně světlá. Tělo šupinatých kaprů je pokryto šupinami cykloidního typu (Dubský a kol., 2003; Adámek a kol., 2013). V dnešní době známe i další tři formy ošupení: lysá, hladká a řádková forma (Dubský a kol., 2003; Hanel a Andreska, 2022). Postavení úst je typicky spodní. Na pyscích jsou dva páry hmatových vousků. Kapr obecný má třířadové uspořádání požerákových zubů o rozložení 1.1.3 – 3.1.1. (Dubský a kol., 2003).

2.2.3. Výskyt, etologie a potravní nároky

Typickým prostředím výskytu kapra obecného jsou toky s mírným prouděním, které lze charakterizovat také jako toky parmového či cejnového pásma, a vody stojaté (údolní nádrže, jezera, rybníky, pískovny). Tyto vody jsou ve většině případů vody s vyšší trofíí, měkkým dnem a s vyššími průměrnými teplotami vody v průběhu roku (Scott, 1973; Hanel a Lusk, 2005; Hanel a Andreska, 2022).

Jedná se o druh vytvářející hejna. V průběhu vegetační sezóny se jedinci pohybují v rámci celého vodního sloupce. Při poklesu teploty vody však jejich aktivita klesá a převážně se vyskytují pouze u dna. Ruku v ruce s klesající teplotou jde i pokles aktivity potravní. To se však netýká plůdku. Ten je potravně aktivní i při teplotách okolo 4 °C (Dubský a kol., 2003; Kottelat a Freyhof, 2007).

Potravní nároky kapra nejsou nikterak specifické. Jedná se o omnivorní druh. Juvenilní jedinci se převážně živí fytoplanktonem a drobným zooplanktonem. Následně se do složení potravního spektra začleňují hmyzí larvy, dospělá stádia hmyzu, zástupci máloštětinatců, korýšů i měkkýšů. Významnou složkou potravy jsou i segmenty rostlin či řasy (Hanel a Lusk, 2005; Kottelat a Freyhof, 2007).

2.2.4. Reprodukce

Pohlavní dospělosti dosahují samci mezi 3. a 4. rokem života, samice pak o rok později, tedy mezi 4. a 5. rokem. V předvýtěrovém období jsou viditelné znaky pohlavního dimorfizmu. Samci jsou v břišních partiích štíhlejší, urogenitální papila má šterbinovitý tvar a na hlavě se vyskytuje mírná třecí vyračka. Samice mají výrazně zvětšenou dutinu břišní a urogenitální papila je okrouhlá (Dubský a kol., 2003; Dubský, 2015).

V podmínkách České republiky se kapr vytírá v období od května do června. Podmiňujícím faktorem je teplota vody v rozmezí 16 – 20 °C (Kottelat a Freyhof, 2007; Dubský, 2015). Jedná se o druh polygamní - po vytření jiker samicí dochází k výtěrové aktivitě a snaze oplodnit jikry od více samců (Alikunhi, 1966). Linhart a kol. (1995) udává hodnoty relativní plodnosti v rozmezí 100 000 – 300 000 ks jiker·kg⁻¹ hmotnosti generační samice. Jikry jsou vytírány na ponořené části rostlin. Jedná se tedy o fytofilní druh (Balon, 1990).

Jikry žlutozelené barvy jsou z důvodu potřeby přilepení k podkladu lepivé a dosahují před nabobtnáním velikosti okolo 1 mm. Po procesu nabobtnání se pak jejich průměr navýší až na 1,3 mm (Dubský a kol., 2003). Larvy se pak následně z jiker kulí při dosažení 60 – 70 d° (Gela a kol., 2009).

2.2.5. Nároky na prostředí

Kapr obecný je druh nepříliš náročný na kvalitu a stálost prostředí, ve kterém se vyskytuje. Za optimální teploty pro růst je udáváno rozmezí 18 – 28 °C (Svobodová a kol., 1993; Dubský a kol., 2003).

Optimální hladina množství rozpuštěného O₂ ve vodě v letním období je dle Dubského a kol. (2003) 6 – 8 mg·l⁻¹. Krátkodobý pokles množství O₂ na 2 mg·l⁻¹ nepředstavuje pro dospělé jedince významný problém. Avšak výrazně nižší hodnoty obsahu kyslíku ve vodě v součinnosti s vyšší teplotou vody mohou způsobit až uhynutí jedinců (Svobodová a kol., 1987; Svobodová a kol., 1993; Velíšek a kol., 2014).

Kapr vykazuje i významnou toleranci ke kolísání hodnoty pH. Dospělí jedinci se dokáží vypořádat s výkyvy od pH 5 až do pH 10 (Dubský a kol., 2003). Nicméně

Hartman a Regenda (2016) uvádějí, že nejvhodnější rozmezí pH pro chov kapra obecného je pH 7 – 8,3.

2.2.6. Produkce kapra ve světě a v ČR

Díky dlouhé tradici chovu, snadnému odchovu, příznivým růstovým vlastnostem a velké toleranci k nepříznivým vlivům se kapr obecný stal třetím globálně nejprodukovanějším rybím druhem. Celková celosvětová produkce k roku 2015 byla 4,447 milionů tun za rok. Z tohoto objemu jen produkce Čínské lidové republiky tvořila cca 75,5 % (3,3579 milionů tun za rok). Oproti tomu produkce všech členských států Evropské unie v témže roce byla pouhých 83,8 tisíc tun, tj. 1,88 % světové produkce. 67,7 % této produkce přitom pochází jen ze tří států - Česká republika, Polsko a Maďarsko (FAO, 2017; Karnai a Szűcs, 2018).

Na našem území byl kapr klíčovým druhem již od prvopočátku rybníkářského hospodaření. To je dokládáno podrobnou rybářskou evidencí starých rybníkářských mistrů a hospodářů, která se nám dochovala již od 13. století (Dubský, 2015). Na základě každoroční výroční zprávy (Produkce a trh ryb) Rybářského sdružení České republiky (2022) víme, že za rok 2021 bylo celkově v ČR vyprodukováno 17 616 tun kapra v tržní velikosti.

2.3. Plemena kapra obecného chovaná na území ČR

V rámci této části diplomové práce jsou popsána výhradně plemena kapra, jež byla zahrnuta do experimentu. Nejedná se tedy o kompletní výčet plemen chovaných na našem území. Těch je dle Flajšhanse (2013) v nynější době v rámci České republiky chováno 24.

2.3.1. Amurský sazan (AS)

Jedná se o plemeno kapra na našem území nepůvodní, jež se k nám dostalo v roce 1983 z Ukrajiny. Hlavním motivem k jeho importování bylo využití plemene v procesech komparace užitkových vlastností s rozdílnými plemeny. Amurský sazan je chápán jako původní populace kapra z amurské oblasti. Dnes je označován jako

Cyprinus rubrofasciatus. Ve starší literatuře se však setkáváme s pojmenováním *Cyprinus carpio haematopterus* (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans, 2013).

Hlavními morfologickými a užitkovými rysy jsou obdobná růstová rychlost plůdku, jakou vykazují i plemena domácí, která se však od 3. roku života snižuje, a jedinci AS se v růstu opoždějí. AS vykazuje výbornou všeobecnou odolnost a nízkou míru mortality v období plůdku (Pokorný a kol., 1995). Jedinci AS mají rovněž výrazně vyšší odolnost oproti nákazám KHV (koi herpesviróza) (Piačková a kol., 2013), SVC (jarní virémie kapra) (Pokorný a kol., 1995) a CEV (Carp Edema Virus) (Adamek a kol., 2017).

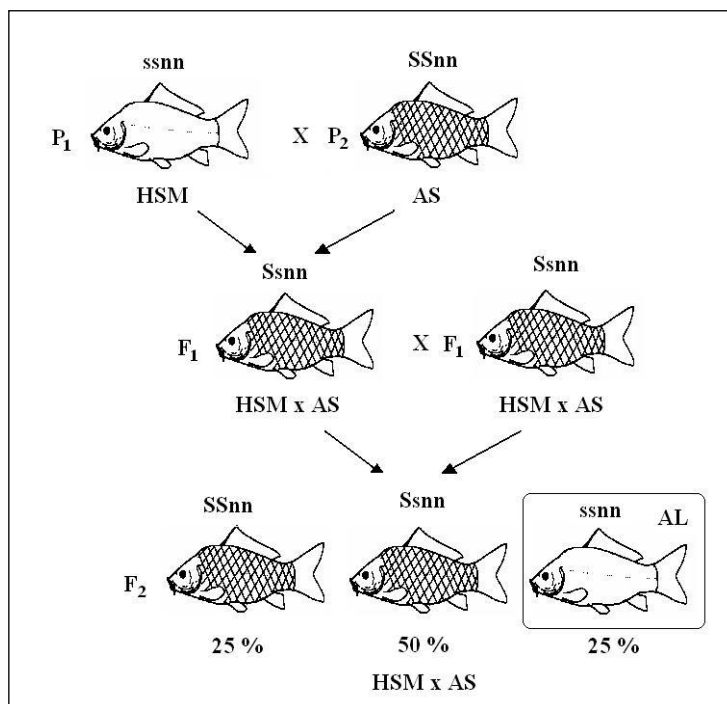
Za primární přínos AS pro šlechtitelskou činnost je považována jeho genetická odlišnost od tuzemských plemen kapra. AS se proto využívá jako reference při určování genetické vzdálenosti mezi různými plemeny a populacemi a k zajištění významného heterózního efektu při křížení (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans, 2013). V minulosti byl AS využit k vzniku plemene Ropšinský kapr a Amurský lysec. V prvním zmiňovaném případě bylo provedeno křížení s Haličským kaprem, v případě druhém bylo využito syntetické linie maďarských lisců HSM (Kirpichnikov, 1981; Flajšhans, 2013).

2.3.2. Amurský lysec (AL)

Jedná se o poměrně nové plemeno kapra obecného. Jeho vzniku se věnovala šlechtitelská stanice při VÚRH Jihočeské univerzity ve Vodňanech mezi lety 1996 – 2003. Uznáním plemenem se stalo na základě schválení Ministerstva zemědělství ČR v roce 2014. AL je dále rozlišován na dvě separované linie: AL_V - vodňanská linie, AL_P - pohorelická linie (Bogeruk, 2008; Flajšhans, 2013; Gela a kol., 2014; Flajšhans a kol., 2015; Prechal a kol., 2022).

K vyprodukování plemene AL bylo provedeno několik šlechtitelských kroků. tento postup je schématicky popsán ve schématu dle Flajšhanse a kol. (2008) (viz Obr. č. 1). V parentální generaci bylo využito v mateřské linii smíšeného vzorku oocytů syntetické maďarské linie lisců - HSM a v otcovské linii spermatu AS. Jedinci generace F1 byli následně kříženi mezi sebou. Výsledkem tohoto kroku bylo v F2 generaci vyštěpení tří genotypů (SSnn : Ssnn : ssnn) ve štěpném poměru 25 % : 50 % : 25 %. Jedinci s genotypem ssnn, respektive jedinci s lysým fenotypem byli využiti jako základ

vodňanské linie Amurského lysce (Bogeruk, 2008; Flajšhans, 2013; Prchal a kol., 2022). Pro vznik pohořelické linie byla mezi lety 2003 – 2006 v obdobném procesu nahrazena syntetická linie HSM Pohořelickým lyscem (Flajšhans a kol., 2008; Prchal a kol., 2022).



Obrázek č. 1: Schéma vzniku plemene Amurský lysec (Flajšhans a kol., 2008).

Tělo AL je obdélníkového tvaru s nižším tělesným rámcem. Hřbet je nevýrazně klenutý a hlava je typicky menší s rovnou horní linií. Fenotypově se jedná o kapra lysého, avšak poloha, velikost a tvar šupin na těle je nestálá. Tato skutečnost je považována za hlavní důvod, proč se AL v produkčním rybářství nevyužívá v čisté formě, ale pouze jako jeden z rodičů v parentální generaci meziplemenných hybridů (Prchal a kol., 2022).

V produkčním rybářství je AL využíván výhradně ke křížení s jinými plemeny. Výslední hybridy vykazují vyšší odolnost vůči onemocněním, vyšší míru kumulativního přežití a lepší růstové vlastnosti (Flajšhans a kol., 2008; Piačková a kol., 2013; Prchal a kol., 2022).

2.3.3. Ropšínský kapr šupinatý (ROP)

Ropšínský kapr šupinatý je na našem území nepůvodním plemenem. Do tehdejší ČSSR byl importován za účelem využití v hybridizačních programech. ROP byl vyšlechtěn ve 30. letech minulého století na území Ruska v Kursku a Novgorodu. Šlechtitelské činnosti na tomto plemenu se věnoval profesor Kirpičnikov. Pro založení plemene ROP využil Haličského kapra a Amurského sazana. V dnešních době je díky své odolnosti stále chován v severských oblastech (Pokorný a kol., 1995).

Hlavními užitkovými rysy jsou vysoká míra přežití, odolnost vůči zhoršeným podmínkám v průběhu komorování, zvýšená odolnost vůči veškerým stresovým situacím a stagnování růstu od 3. roku života. V 1. roce života dosahují jedinci ROP oproti tuzemským šupinatým plemenům až pětkrát vyšší míry přežití. I přes zmiňované pozitivní vlastnosti se ROP nevyužívá v produkčních rybářstvích v čisté formě, neboť výhody jsou převáženy nevyhovující růstovou rychlostí v porovnání s českými plemeny (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans, 2013).

Ve šlechtitelských postupech se jedná o jedno z nejvíce využívaných plemen. Hlavní uplatnění našel při produkci užitkových F1 kříženců s plemeny Žďárský šupináč, Mariánskolázeňský kapr šupinatý, Jihočeský kapr šupinatý a Tatajský kapr šupinatý. ROP byl využit i při vzniku plemene Severský lysec (M 72), a to jako otcovská linie v parentální generaci. Důvodem pro použití ROP byla snaha o vklínění jeho genetické informace do genomu lysé ryby s cílem zajistit vyšší odolnost a vitalitu plůdku (Flajšhans, 2013). V neposlední řadě je hybrid Ropšínského kapra a Tatajského kapra uplatňován při testování užitkovosti lysých plemen kapra jako kontrolní šupinatý hybrid (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans a kol., 2008; Flajšhans, 2013).

2.3.4. Tatajský kapr šupinatý (TAT)

Toto šupinaté plemeno kapra bylo vyšlechtěno v Maďarsku, v HAKI (Halászati Kutatóintézet) Szarvas doktorem Bakosem. K vyšlechtění TAT bylo využito původních populací kapra z oblasti Tata. Dle dochovaných informací se jedná o jedno z nejstarších šupinatých plemen kapra maďarského původu. Do ČSSR bylo toto plemeno dovezeno v letech 1982 a 1983. Hlavním důvodem jeho dovozu bylo využití TAT v hybridizačních programech (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans, 2013).

Hlavními morfologickými a užitkovými rysy jsou: vyšší mortalita jedinců ve stádiu plůdku, zvýšená vnímavost k infekčním zánětům plynového měchýře a v populaci až 6 % jedinců vykazuje nějakou formu tělesné anomálie. Při kontrole užitkovosti TAT bylo zjištěno, že v porovnání s dalšími v ČR původními plemeny kapra dosahuje pouze průměrných hodnot přírůstku a v mnoha případech dochází i k výraznému hmotnostnímu rozrůstání v rámci populace (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans, 2013).

TAT je doposud využíván k hybridizaci s importovanými, ale i aborigenními plemeny kapra. Na své potomstvo TAT přenáší zvýšený tělesný rámec. Hybrid plemen TAT × ROP je uplatňován při testování užitkovosti lysých plemen kapra jako kontrolní linie (Pokorný a kol., 1995; Flajšhans a kol., 2008; Flajšhans, 2013).

2.3.5. Syntetická linie maďarských lysců (HSM)

Tato syntetická linie vznikala mezi lety 1997 – 2001 na Výzkumném ústavu rybářském a hydrobiologickém ve Vodňanech. Pro tvorbu nové linie bylo využito plemen kapra, jež vykazovala vzájemně vysokou genetickou příbuznost: Maďarský lysec M2, hybridy z F2 generace mezi Aischgrundským lyscem a maďarskými plemeny, hybridy vzniklé křížením maďarských lysých plemen 215 a M2 a hybridy plemene M2 a syntetického lysého českého plemene C 435 (Bogeruk, 2008; Flajšhans, 2013; Prchal a kol., 2022).

HSM se uplatňuje k hybridizaci s plemenem M 72. Takto vzniklé F1 hybridy jsou významnou měrou využívány v produkčním rybářství. HSM by také mohla v budoucnu posloužit k nahrazení dříve dovezených lysých plemen z Maďarska (Maďarský lysec 215, Maďarský lysec L 15, Maďarský lysec M2 a Maďarský lysec M1) (Flajšhans a kol., 2008; Flajšhans, 2013).

2.3.6. Kapr Koi

Jedná se o vyšlechtěné, barevné variety z druhu kapra (*Cyprinus rubrofuscus*). První zmínky o křížení barevných forem kapra pocházejí z oblasti Číny před 2 000 lety. Následně se chov barevných kaprů dostal na území Japonska, kde získal značnou oblibu (Flajšhans a Kvasnička, 1997).

Celosvětově používaný název „Koi“, je odvozeninou od japonského názvu „našikigoi“ - brokátový kapr (Hanel a Andreska, 2022).

Na území České republiky byl oficiální cestou kapr Koi importován poprvé v roce 1978 docentem Olivou (Pecha, 1988). V následujících letech byly dováženy další populace. Příkladem v roce 1992 populace kapra Koi z Izraele. V počátcích jeho chovu na našem území se však jednalo o velice okrajový zájem. Rozvoj a zintenzivnění chovu kapra Koi zapříčinil až zvýšený zájem o zahradní jezírka a okrasné ryby po roce 1989 (Flajšhans a Kvasnička, 1997).

Barvy vyskytující se u kaprů Koi jsou: bílá, červená, zlatá, žlutá, růžová, oranžová, zelená, modrá a jejich kombinace. I proto je k dnešku známo na 100 rozdílných variet kapra Koi. Zajímavostí je, že křížením kapra Koi s divoce zbarveným kaprem je vždy 100 % získaných potomků divoce zbarvených. Gen určující barevné zbarvení je tedy oproti genu divokého zbarvení recesivní (Wohlfarth a Rothbard, 1991; Hilble a Langfeldt-Feldmann, 2001).

2.4. Hematologie ryb

Hematologie je vědní či medicínská disciplína, jež se zabývá studiem krve, jejího složení, elementů a částic. Výzkumná činnost je především zaměřena na krevní buňky, jejich morfologii, funkci, kvantitu a kvalitu. Výsledky hematologického vyšetření mohou být ovlivněny mnoha faktory (roční období, pohlaví, nákaza, výživa, stres apod. (Donner, 1985; Svobodová a kol., 1986; Doubek a kol., 2003a). Krev ryb má oproti savčí krvi jistá specifika, která budou popsána v následujících podkapitolách.

2.4.1. Krev ryb (*Sanquis*)

Sanquis lze charakterizovat jako netransparentní, červeně zbarvenou tekutinu s výraznou viskozitou. Krev je v rybím těle koncentrována v krevních cévách (*vasa sanguinea*), kterými je transportována po celém těle (Dvořák a kol., 2014).

Za hlavní funkci krve je primárně považován transport plynů. Krev rozvádí do těla kyslík, který je využíván buňkami v metabolických procesech, a následně odvádí z těla do žaberního aparátu k respiračnímu vyloučení oxid uhličitý. Kromě plynů jsou krví transportovány hormony, enzymy, nutrienty a krevní elementy (Volf a Havelka, 1958; Dubský a kol., 2003; Dvořák a kol., 2014). Dle Doubka a kol. (2003b) se krev podílí i na obranyschopnosti, a to prostřednictvím bílých krvinek, imunoglobulinů a cytokinů, jež se v krvi vyskytují. Výrazným znakem rybí krve je její rychlá koagulace, která je dána vysokou aktivitou trombocytů a dalších hemokoagulačních faktorů. Proces sražení rybí krve trvá v průměru okolo jedné minuty (Pravda a Svobodová, 2003).

Množství krve v rybím těle tvoří u nadřádu *Teleostei* 1 – 2 % tělesné hmotnosti daného jedince. Výjimkou mohou být kupříkladu někteří zástupci řádu *Salmoniformes*, u nichž krev může tvořit až 6% podíl z tělesné váhy. Tato skutečnost je přisuzována zvýšené životní aktivitě těchto ryb a tím i potřebě většího množství kyslíku (Dubanský a Svobodová, 1995; Harvey, 2001). Nejen aktivita může ovlivnit množství krve. Dalšími faktory je například pohlaví (Svobodová a kol., 1978; Flajšhans a kol., 2004), tělesná zdatnost, zdravotní stav (Řehulka, 1996), věk konkrétního jedince (Dubanský a Svobodová, 1995; Harvey, 2001) a ploidní úroveň (Flajšhans a kol., 2004, 2011).

Vzhledem k neschopnosti produkce dostatečného množství tepelné energie a špatných izolačních vlastností organismu jsou ryby klasifikovány jako organismy poikilotermní, čili studenokrevné (Willmer a kol., 2000; Dubský a kol., 2003; Adámek a kol., 2013). Teplota rybí krve je totožná s teplotou vody, ve které se ryba vyskytuje. Při zvýšené míře metabolických procesů nebo při fyzickém vypětí může dojít k jejímu nárůstu o 0,5 °C .

Krev ryb sestává z krevních elementů (buněk) a krevní plazmy. Krevní plazma zastává funkci fluidního média, zajišťujícího transport látek a krevních elementů do celého organismu (Volf a Havelka, 1958). Mezi krevní elementy jsou řazeny erytrocyty, trombocyty a leukocyty (Genten a kol., 2009). Dle Novotného a kol. (1966) tyto elementy představují 15 – 40% podíl objemu krve. V porovnání se savci, u nichž se v krevním řečišti vyskytují pouze zralá stádia krevních elementů, se v krevním řečišti ryb nacházejí i krvinky, jež svůj vývoj dosud nedokončily a postupně dozrávají (Dubský a kol., 2003).

2.4.2. Krevní plazma

Jedná se o tekutou složku krve, vyznačující se transparentností, jemně žlutým barevným zbarvením a mírně alkalickým pH (Dubský a kol., 2003). Kupříkladu krev kapra obecného dle Dvořáka a kol. (2014) dosahuje v průměru hodnot pH 7,6. Hlavní úlohou, kterou krevní plazma v rybím organismu zajišťuje, je funkce transportního média (Volf a Havelka, 1958). Dle Masopusta (1998) je stanovení biochemických parametrů krevní plazmy v dnešní době jedno z významných vyšetření při evaluaci zdravotního stavu a kondice ryb.

Majoritní složkou krevní plazmy je voda. Ta tvoří až 92% podíl. Dále jsou v plazmě obsaženy proteiny, sacharidy, lipidy, minerály (Na^+ , Mg , Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , PO_4^{3-} , CO_3^{2-}), O_2 , CO_2 , vitamíny, hormony, enzymy a buněčnou aktivitou vzniklé metabolity (močovina, amoniak) (Svobodová a kol., 1986; Mahoney a McNulty, 1992; Doubek a kol., 2003b).

Za nejvýznačnější složku krevní plazmy ryb považuje Svobodová a kol. (1986) bílkoviny. 40 – 60 % proteinů v krvi tvoří albuminy, zbylé množství je pak tvořeno α , β a γ globuliny (Doumas a kol., 1981). Množství proteinů v krevní plazmě se určuje jako

celkové bílkoviny – TP (total protein). Fyziologické hodnoty TP u kapra obecného jsou dle Kolářové a Velíška (2012) v rozpětí 16 – 45 g·l⁻¹. Koncentrace bílkovin v krevní plazmě je ovlivňována především množstvím a kvalitou přijaté potravy, intenzitou metabolických procesů, teplotou vody, pohlavím ryby, sezónností (TP na jaře nižší, vyšší na podzim) a zdravotním stavem ryby (Dubský a kol., 2003; Dvořák a kol., 2014). Zjištění zvýšené hodnoty TP napovídá poškození jater a ledvin, naopak snížení TP naznačuje vliv toxických látek na organismus (triazinové pesticidy) či akutní infekci (Walmsley a kol., 1992; Velíšek a kol., 2008).

Neméně důležitou složkou krevní plazmy jsou lipidy. Tuky plní tři základní funkce, a sice zásobní, termoizolační a v případě nedostatku sacharidů mají úlohu druhotného energetického zdroje (Pokorný a kol., 1998). V rámci tuků jsou v těle ryb nejvíce obsaženy mastné kyseliny, cholesterol a triacylglyceroly (Dvořák a kol., 2014). Celkový objem lipidů (total lipid - TL) je v plazmě kaprů v rozmezí 2 – 8 g·l⁻¹, běžná koncentrace triacylglycerolů u jedinců téhož druhu je 0,49 – 2,83 mmol·l⁻¹ (Kolářová a Velíšek, 2012) a cholesterolu 1,5 – 12 mmol·l⁻¹ (Svobodová a kol., 1986). Dle Dvořáka a kol. (2014) je stanovení TL jedním z nejdůležitějších pro určení kondičního stavu.

Úlohu primárního zdroje energie zastávají sacharidy. Výhradně se jedná o glukózu (C₆H₁₂O₆), která je jako pohotovostní zdroj energie při tělesné aktivitě využívána jako první (Folmar, 1993). Množství glukózy v krvi je částečně ovlivňováno vnějšími faktory (teplota vody, sezónnost, aktivita ryby, potrava), její fyziologická koncentrace v krvi je 1,3 – 6,9 mmol·l⁻¹ (Kolářová a Velíšek, 2012; Dvořák a kol., 2014). Případné zjištění vysokých hodnot obsahu glukózy v krvi (10 – 30 mmol·l⁻¹) indikuje skutečnost, že ryba byla vystavena vysoké míře stresu (Svobodová a kol., 1986). Naopak markantní pokles této hodnoty pod spodní hranici fyziologického rozmezí dle Kolářové a Velíška (2012) napovídá vyčerpání glykogenu a následnému akutnímu jaternímu selhání.

Koncentrace Ca²⁺ v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozmezí 0,92 – 3,23 mmol·l⁻¹ (Kolářová a Velíšek, 2012). Snížená koncentrace tohoto minerálu v krvi je dávána do souvislosti se špatnou funkcí ledvin, nemocí kosterního aparátu ryby či poruchou metabolismu vápníku (Marshall, 1995).

Koncentrace Mg^{2+} v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozmezí 0,37 – 1,47 $mmol \cdot l^{-1}$ (Kolářová a Velíšek, 2012). Významnou úlohu hořčík sehrává v procesu aktivace enzymů a při tvorbě acetylcholinu (Hyanek, 1980).

Koncentrace PHOS (anorganický fosfát) v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozmezí 0,72 – 3,89 $mmol \cdot l^{-1}$ (Kolářová a Velíšek, 2012). Fosfor napomáhá organismu hromadit energii, účastní se v procesu vedení nervových vzruchů a je nezbytnou součástí fosfolipidů a nukleových kyselin (Dzurik, 1996).

Množství amoniaku (NH_3) v krevní plazmě je velice proměnlivé. Záleží na mnoha faktorech. Tím nejzásadnějším je intenzita metabolismu (Dubský a kol., 2003). Normální hodnoty jsou dle Svobodové a kol. (1986) v rozmezí 200 – 800 $\mu mol \cdot l^{-1}$. Mimo vegetační období tato hodnota výrazně klesá (Dubský a kol., 2003).

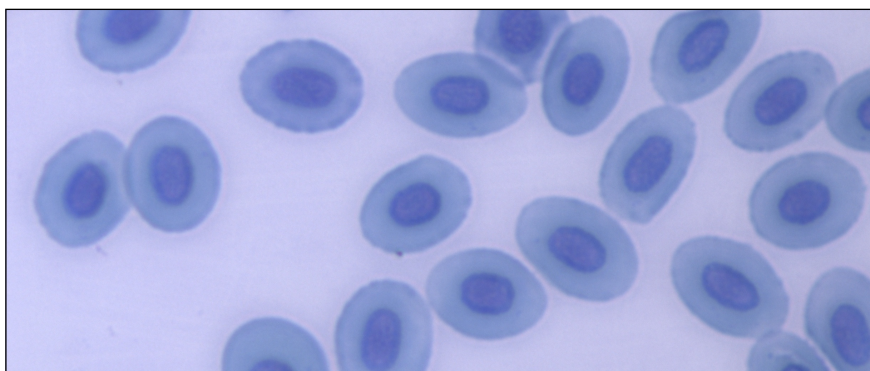
2.4.3. Erytrocyty (Red Blood Cells; RBCs)

Erytrocyty, též červené krvinky, jsou nejčtenější krevní buňky. Erytrocyty kapra jsou buňky oválného tvaru o velikosti $12,3 \times 8,8 \mu m$ s výrazně velkým, centrálně uloženým, oválným buněčným nucleem (viz Obr. č. 2) (Lucký, 1962; Dubský a kol., 2003). Velikost erytrocytů se liší mezi jednotlivými druhy ryb a pohlavím daného druhu (Campbell a Murra, 1990; Hawkins a Mawdesley-Thomas, 2006). Velikostně větší erytrocyty lze pozorovat u ryb s vyšší úrovní ploidie (Pravda a Svobodová, 2003). Dle Dubského a kol. (2003) jsou červené krvinky ryb značně elastické a tvarově variabilní. Největším evolučním rozdílem rybích erytrocytů oproti savcům je již zmiňovaná přítomnost buněčného jádra. Dále lze v RBCs nalézt endoplazmatická retikula a mitochondrie (Imagawa a kol., 1989; Pravda a Svobodová, 2003).

Počet RBCs v 1 litru krve zdravého jedince kapra obecného je dle Svobodové a kol. (1986) $1,1 - 1,8 \cdot 10^{12}$ - tedy $1,1 - 1,8 T \cdot l^{-1}$. V komparaci oproti savcům je počet červených krvinek menší. Nízký počet erytrocytů v krvi je u ryb však kompenzován dvakrát až čtyřikrát větším povrchem červené krvinky při srovnání s RBCs savců (Pravda a Svobodová, 2003).

Primární úlohou červených krvinek je rozvádění respiračních plynů (O_2 , CO_2) tělem ryb. Esenciálním pro tuto vlastnost červených krvinek je hemoglobin (Dubský a

kol., 2003). RBCs plní i další, sekundární funkce. Jednou z nich je kupříkladu aktivní podílení se na transportu thyroidních hormonů po těle (Pravda a Svobodová, 2003) a některé nedávno publikované studie naznačují jejich zapojení i do imunitní odpovědi rybího organismu (Stosik a kol., 2020).



Obrázek č. 2: Erytrocyty kapra obecného (foto: A. Nádaský).

Počet erytrocytů (RBC)

Celkový počet červených krvinek je jedním z nejhojněji určovaných ichthyohematologických parametrů (Dubský a kol., 2003). Hlavním důvodem je skutečnost, že komparace zjištěných hodnot oproti hodnotám standardním pro daný druh může napovědět případné působení patogenních agens, zhoršeného životního prostředí či vliv toxických látek na rybu (Kolářová a Velíšek, 2012). Z těchto důvodů doporučuje Fazio (2019) stanovení hodnoty RBC provádět v chovech ryb rutinně.

Počet červených krvinek v krvi je ovlivňován nejen nemocemi, ale i širokým spektrem zevních vlivů (Anderson a kol., 1985; Lusková, 1997). Mezi vlivy, které tuto hodnotu redukuje, řadíme: epizootická nekróza hemopoetické tkáně, ceroidní degenerace jater, infekční anémie pstruhů (Pravda a Svobodová, 2003; Máchová a kol., 2014), motolice *Eudiplozoon nipponicum* (Pravda a Svobodová, 2003), rtuť (Setiyowati a kol., 2019), herbicidy obsahující kyselinu (4-chlor-2-methylfenoxy)octovou (Lutnická a kol., 2018) a měď obsahující pesticidy (Svobodová a Máchová, 1985).

Hematokritová hodnota (PCV)

V dnešní době se jedná, díky snadné, rychlé proveditelnosti a exaktním výsledkům, o jeden z nejčastěji stanovovaných parametrů červené složky krve vůbec. Zjištěná

hodnota nám udává poměr toho, kolik z daného objemu krve tvoří objem červených krvinek (Hesser, 1960; Svobodová a kol., 1986; Pravda a Svobodová, 2003).

Hodnota PCV je udávána v $l \cdot l^{-1}$. Za normální hodnoty PCV je považováno u kapra obecného rozmezí $0,28 - 0,4 l \cdot l^{-1}$ a u pstruha duhového $0,3 - 0,45 l \cdot l^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986, 1991).

Obdobně jako RBC, je i hodnota PCV výrazně ovlivňována vnějšími faktory. Mezi činitele, kteří tuto hodnotu redukují, řadíme: infekční anémii lososů (Pravda a Svobodová; Rimstad a kol., 2011), bičíkovce (*Trypanosoma a Trypanoplasma*) (Thomas a Woo, 1988), ceroidní degeneraci jater (Navrátil a kol., 2000), malý obsah Fe v potravě (Gatlin a Wilson, 1986), diaziny (Pečená a Svobodová, 1989) a organofosfáty (Svoboda a kol., 2001). Mezi činitele, kteří tuto hodnotu navyšují, řadíme: akutní intoxikace NH_3 (Spangenberg a kol., 1989), kovy (olovo, měď) (Svobodová a kol., 1994; Witeska, 2005) a motolice *Posthodiplostomum cuticola* (Rolbiecki, 2004).

Střední objem erytrocytu (MCV)

Hodnota MCV udává průměrný objem erytrocytů v krvi. Na základě tohoto údaje lze diagnostikovat případné mikrocytární, makrocytární nebo normocytární anemické stavy (Doubek a kol., 2003a). K vypočtení MCV je nutné předem stanovit hodnoty RBC [$T \cdot l^{-1}$] a PCV [$l \cdot l^{-1}$] (Svobodová a kol., 1986, 2012).

Hodnota MCV se vyjadřuje v řádu $1 \cdot 10^{-15}$ litru., neboli ve femtolitrech [fl]. Za normální hodnoty MCV je považováno u kapra obecného rozmezí 200 – 300 fl a u pstruha duhového 350 – 400 fl (Svobodová a kol., 1986, 1991).

Oscilaci hodnoty MCV, ať již nárůst, či pokles, může zapříčinit teplota, sezónnost (Vuren a Hattingh, 1978) a dle Karimi a kol. (2013) i pohlaví. Mezi činitele, kteří tuto hodnotu výhradně navyšují, řadíme: expozici ryb herbicidům s MCPA (Lutnicka a kol., 2018) nebo organofosfátový toxický účinek (Pravda a Svobodová, 2003). Naopak pokles MCV byl zaznamenán při vlivu zinku (Kori-Siakpere a Ubogu, 2008).

Hemoglobin erytrocytu (MCH)

Hodnota MCH udává průměrné množství krevního barviva hemoglobinu v jednom erytrocytu. K vypočtení MCH je nutné předem stanovit hodnoty RBC [$\text{T}\cdot\text{l}^{-1}$] a Hb [$\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] (Svobodová a kol., 1986, 2012).

Hodnota MCH je uváděna v pikogramech [pg, tj. $1\cdot 10^{-12}$ g. Za normální hodnoty MCH je považováno u kapra obecného rozmezí 50 – 60 pg a u pstruha duhového 65 – 75 pg (Svobodová a kol., 1986, 1991).

Činitelé, kteří ovlivňují hodnotu MCH, jsou totožní s vlivy, jež jsou zmíněny v kapitole 2.6.5. Střední objem erytrocytu (MCV). Jako další faktory, jež tuto hodnotu ovlivňují, lze zmínit: chrom - pokles MCH (Abedi a kol., 2012), měď - nárůst MCH (Witeska a kol., 2010a), insekticid diazinon - nárůst hodnoty MCH v komparaci s kontrolním vzorkem (Hedayati a Niazie, 2015).

Střední barevná koncentrace (MCHC)

Hodnota MCHC vyjadřuje koncentraci hemoglobinu v objemu červených krvinek. K vypočtení MCHC je nutné předem stanovit hodnoty PCV [$\text{l}\cdot\text{l}^{-1}$] a Hb [$\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] (Svobodová a kol., 1986, 2012).

Hodnota MCHC je uváděna v $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Za normální hodnotu je považováno u kapra obecného rozmezí 200 – 260 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a u pstruha duhového 170 – 200 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986, 1991).

Mezi činitele, kteří tuto hodnotu redukují, řadíme: amoniak (NH_3) - akutní autointoxikace (Spangenberg a kol., 1989), hypochromní anémie plůdku kapra (Pravda a Svobodová, 2003) a účinek chromu (Abedi a kol., 2012). Naopak vlivy, při jejichž účinku dochází k nárůstu MCHC, jsou: expozice ryb v prostředí s vysokou mírou olova (Witeska a kol., 2010b) a stříbra (Vali a kol., 2020).

2.4.4. Hemoglobin

Červené krevní barvivo (hemoglobin) je metaloprotein, který díky zastoupení atomu železa ve své struktuře na sebe váže respirační plyny, a ty mohou být takto transportovány krevním řečištěm do celého těla. Ve složení hemoglobinu je z 96 %

zastoupena bílkovina globin a zbylá 4 % tvoří skupina hem. Právě v hemové skupině je vázán atom dvojmocného železa (Fe^{2+}) (Powers, 1980). Po navázání kyslíku se hemoglobin mění na oxyhemoglobin, po interakci s oxidem uhličitým je to carbaminohemoglobin (Dubský a kol., 2003). Evolučními procesy si hemoglobin ryb vytvořil výrazně vyšší afinitu k O_2 . Hlavním důvodem k tomu bylo lepší vypořádání se s výraznými kyslíkovými deficity, k nimž může ve vodním prostředí snadno dojít. Hemoglobin je v erytrocytu rozložen difuzně a odpovídá izochromii (rovnoměrná barevnost erytrocytu) s jednotným zbarvením cytoplazmy erytrocytů do růžových odstínů (McDonald a Milligan, 1992; Pravda a Svobodová, 2003).

Množství hemoglobinu (Hb)

Stanovením tohoto parametru lze odhalit anémii či deformace červených krvinek, které mohou být vyvolané účinkem toxinů (Donner, 1985). Z těchto důvodů Fazio (2019) doporučuje chovatelům ryb provádět stanovení Hb v pravidelných intervalech a přijít tak na potenciálně vznikající problém co nejdříve.

Hodnoty množství hemoglobinu jsou uváděné v jednotkách $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Za normální hodnoty Hb je považováno u kapra obecného a pstruha duhového rozmezí 60 – 100 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986, 1991).

Mezi činitele, kteří tuto hodnotu redukují, řadíme: trypanosomózu a trypanoplasmózu (Thomas a Woo, 1988), postodiplostomózu (Rolbiecki, 2004), pesticid na bázi triazinů (atrazin) (Svobodová a kol., 1987; Velíšek a kol., 2011), ceroidní degeneraci jater (Navrátil a kol., 2000) a deficitní stav železa v organismu (Gatlin a Wilson, 1986). Snížená koncentrace Hb byla pozorována i u ryb, kterým v rámci krmiv bylo do těla aplikováno léčivo oxytetracyklin o koncentraci 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Svobodová a kol., 2006).

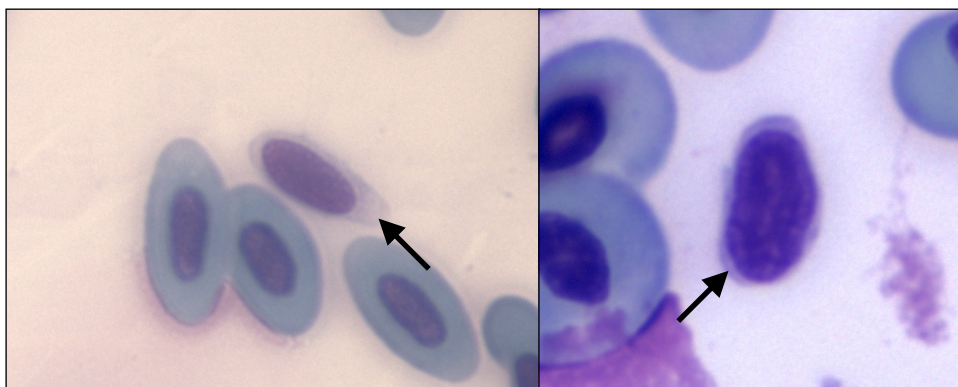
2.4.5. Trombocyty

Trombocyty - krevní destičky, se obdobně jako erytrocyty ryb vyznačují totožnou evoluční odlišností oproti savcům. V jejich struktuře se nalézá buněčný nucleus (viz Obr. č. 3) a jsou tak považovány za plnohodnotné buňky. Oproti tomu trombocyty

savců jsou popisovány jako pouhé cytoplazmatické útržky megakaryocytů (Groff a Zinkl, 1999; Doubek a kol., 2003b; Pravda a Svobodová, 2003). Průměrné rozměry jednotlivých krevních destiček jsou dle Imagawy a kol., (1989) $7,7 \times 4,6 \mu\text{m}$. Morfologicky jsou determinovány čtyři formy trombocytů (špičatá, zakulacená, vřetenovitá a nahojaderná). Forma trombocytů závisí na probíhající fázi koagulačních procesů (Hrubec a Smith, 2006). Dle Pravdy a Svobodové (2003) však mezi nejvíce zastoupené formy trombocytů v krvi patří forma špičatá a vřetenovitá. Jádru trombocytů vyplňuje zpravidla majoritní část buňky (Pecka, 1995).

Počet trombocytů v krvi je vysoce volatilní a odvíjí se od mnoha faktorů. Počty uváděné různými autory se mnohdy liší. Nejčastěji udávané jsou hodnoty stanovené Svobodovou a kol., (1986). Tito autoři uvádějí, že u kapra obecného dosahuje počet trombocytů v krvi hodnot v intervalu $10 - 40 \cdot 10^9$ - tedy $10 - 40 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$.

Jejich primární funkcí je účast v hemokoagulačních procesech (Pravda a Svobodová, 2003). Princip hemokoagulace je u ryb identický s principem srážení krve u dalších obratlovců. Po styku krve se zevním prostředím dojde za pomoci enzymu trombinu ke srážení rozpustné bílkoviny fibrinogen na nerozpustný fibrin (Dubský a kol., 2003). Druhotně je trombocytům ryb přikládáno i podílení se na fagocytóze společně s monocyty a neutrofilními granulocyty (Thuvander a kol., 1987; Pravda a Svobodová, 2003).



Obrázek č. 3: Trombocyty kapra obecného (foto: A. Nádaský).

2.4.6. Leukocyty (White Blood Cells; WBCs)

Bílé krvinky jsou jedním ze základních typů krevních částic. Jejich hlavní funkcí v těle ryb, ale i ostatních živočichů, je zajišťování obranných reakcí (Pravda a Paláčková, 1988). Mezi všemi druhy WBCs jsou výrazné tvarové, ale i velikostní rozdíly (Dubský a kol., 2003). Rybí leukocyty, obdobně jako leukocyty dalších obratlovců, jsou členěny do dvou skupin (agranulocyty; granulocyty) na základě přítomnosti granul v buněčné cytoplazmě. Do skupiny agranulocytů jsou řazeny lymfocyty a monocyty, druhou skupinu tvoří eozinofilní, bazofilní, neutrofilní a heterofilní granulocyty (Volf a Havelka, 1958; Dubanský a Svobodová, 1995; Rey Vázquez a Guerrero, 2007). Názvosloví jednotlivých typů WBCs je poněkud zkomplikováno přítomností nezralých stádií leukocytů, což ztěžuje porovnání výsledků vědeckých prací, neboť různí autoři se mohou v determinaci a pojmenovávání bílých krvinek lišit (Piačková a kol., 2014).

Množství WBCs v 1 litru krve zdravého jedince kapra obecného je dle Svobodové a kol. (1986) $10 - 80 \cdot 10^9$ - tedy $10 - 80 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$. Výrazný nárůst této hodnoty může naznačovat probíhající infekci či jiné onemocnění (Modrá a kol., 1998).

Hlavní úlohou leukocytů v rybím organismu je obrana organismu před patogenními agens. K tomuto účelu disponují bílé krvinky širokou škálou obranných strategií. Mezi ty nejběžnější patří například makrofágie, pinocitóza, fagocytóza, schopnost přibližování se k patogenům díky chemotaxi a ameboidnímu pohybu, sekreční aktivita (produkce látek destruuujících původce onemocnění) a fixace toxických látek (Pravda a Paláčková, 1988; Watanuki a kol., 1999; Dubský a kol., 2003).

Počet leukocytů (WBC)

Počet bílých krvinek je dalším velice významným parametrem při provádění celkového ichtyohematologického šetření, neboť jeho hodnota významně koreluje s případným onemocněním či infekcí, a tak na základě změn této hodnoty lze predikovat případné napadení organismu patogenem (Svobodová a kol., 1986; Pravda a Paláčková, 1988; Dubský a kol., 2003). Při provádění experimentů je však velmi důležité brát

v potaz skutečnost, že WBC je ovlivnitelné dalšími faktory a nelze tak vždy za příčinu změny považovat pouze patogenní agens (Modrá a kol., 1998).

Mezi činitele, kteří tuto hodnotu redukují, řadíme: NH_3 (Dabrowska a Własow, 1986), Cr (Abedi a kol., 2012), Zn (Witeska a Kościuk, 2003), organofosfáty (Svobodová a kol., 2001) a dle Máchové a kol. (2014) i fenoly. Opačné účinky na rybí organismus byly popsány u Pb, Hg (Witeska, 2005) a ropných látek (Jahanbakhshi a kol., 2013). Markantní nárůsty hodnoty WBC jsou pak sledovatelné při jakémkoliv napadení rybího organismu virovým nebo bakteriálním onemocněním, infekcí a parazity (Modrá a kol., 1998).

Leukokritová hodnota (Lk)

Hodnota leukokritu vyjadřuje, jaký objem z celkového objemu krve tvoří bílé krvinky (Svobodová a kol., 1986). Tohoto parametru je nejvíce využíváno v ichthyohematologických šetřeních u kapra obecného, ostroretky stěhovavé (*Chondrostoma nasus*) a lososovitých ryb - pstruh obecný (*Salmo trutta*). Pouze u těchto druhů byl zatím prokázán statisticky průkazná sinergie mezi hodnotami WBC a Lk (Lusková, 1997). Výhodami tohoto stanovení je dle Svobodové a kol. (2012) jeho rychlost, snadná proveditelnost, vhodnost pro vyšetření vysokých počtů vzorků a nepodléhá tak významně případné subjektivní chybě osoby, jež stanovení provádí.

Stanovení leukokritové hodnoty se provádí v heparinizovaných kapilárách společně se stanovením PCV (viz kapitola 3.2.3). Tenká vrstvička leukocytů je po centrifugaci na rozhraní vrstvy tvořené erytrocyty a vrstvy krevní plazmy. Výška vrstvičky leukocytů se měří za pomoci okulárového měřítka mikroskopu (Svobodová a kol., 1986, 2012; Lusková, 1997).

Výslednou hodnotu lze uvádět jako procento z celkového objemu krve, či v jednotkách $\text{l} \cdot \text{l}^{-1}$. Za normální hodnoty Lk je považováno u kapra obecného rozmezí $0,002 - 0,01 \text{ l} \cdot \text{l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986, 2012).

Hodnota Lk se mění při vlivu některých faktorů. Jmenovitě lze uvést sezónnost (Lusková, 1997; Sari a kol., 2020) a vliv amoniaku. U ryb vystavených vysokým koncentracím NH_3 byl pozorován pokles hodnoty Lk (Spangenberg a kol., 1989).

Zajímavostí je, že dle Luskové (1997) tento parametr nikterak neovlivňují faktory, jako jsou stáří a pohlaví.

Diferenciální rozpočet leukocytů (Leukogram)

Toto stanovení je velice komplikované z důvodu, že v krvi ryb se nacházejí i vývojová stadia veškerých typů leukocytů (Pravda a Svobodová, 2003; Hrubec a Smith, 2006). Stanovení leukogramu je také velice zatíženo subjektivní chybou osoby, jež provádí určení této hodnoty (Piačková a kol., 2014).

Metodický postup spočívá ve vyhotovení krevního nátěru, jeho fixaci, obarvení a následné determinace a počítání buněk jednotlivých typů bílých krvinek. Jejich zastoupení je pak vyjádřeno v %, nebo přepočítáno na celkové absolutní počty v $G \cdot l^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986, 2012; Dubský a kol., 2003; Pravda a Svobodová, 2003). Zevrubný popis všech metodických kroků je shrnut v kapitole 3.2.3.

Normální hodnoty jednotlivých subtypů bílých krvinek pro kapra obecného jsou uvedeny v kapitolách jež se podrobně těmito subtypy zabývají.

Lymfocyty

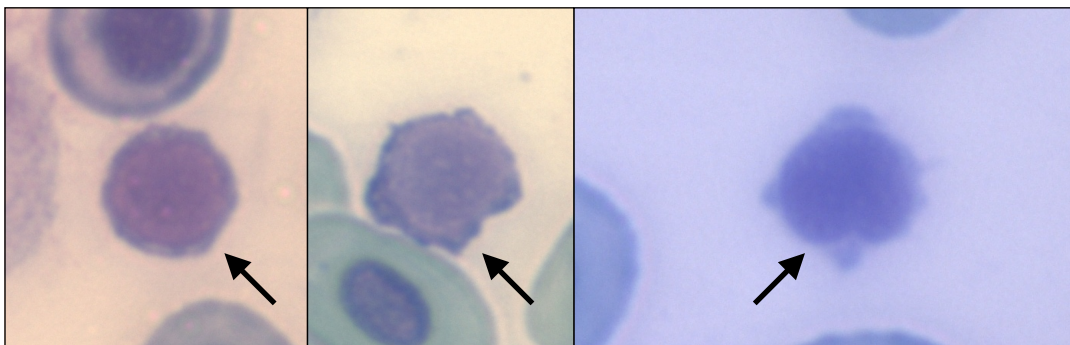
Lymfocyty jsou nejhojněji zastoupeným typem krvinek v bílém krevním obraze ryb. Jedná se agranulocytární leukocyty, běžně dosahující v krvi kapra rozměrů buňky od 7 do 9 μm . Taktéž se v krvi mohou vyskytovat lymfocyty větších rozměrů (12 μm). Ty jsou označovány jako velké lymfocyty a z celkového počtu lymfocytů představují zhruba 10 % (Svobodová a kol., 1986; Dubský a kol., 2003; Pravda a Svobodová, 2003; Genten a kol., 2009). Jádro lymfocytů je kulovitého tvaru, s vysokým obsahem chromatinu, jež je hustě zapleten v karyoplazmě a způsobuje tak typický hrudkovitý vzhled jádra. Jádro zaujímá většinu objemu buňky, je obklopeno bazofilní cytoplazmou. Cytoplazma je bez granulí, či zřídka s malým množstvím azurových zrn (Svobodová a kol., 1986; Imagawa a kol., 1989; Pravda a Svobodová, 2003). Na základě komplexnosti cytoplazmatického lemu jsou popisovány 3 subtypy lymfocytů: lymfocyty s cytoplazmatickým lemem kolem celého jádra, lymfocyty bez jakéhokoliv lemu (nahojaderné) a lymfocyty, u nichž cytoplazmatický lem tvoří jen malé výčnělky

(viz Obr. č. 4) (Ellis, 1977; Svobodová a kol., 1986, 2012). Velké lymfocyty se vyznačují řidšími jádry a výrazně celistvějším cytoplazmatickým lemem (Pravda a Svobodová, 2003).

Množství lymfocytů v krvi je vysoce odvislé od druhu ryby. V krvi kapra obecného tvoří 76 – 97,5% podíl v bílém krevním obraze (Svobodová a kol., 1986). Poměr mezi počtem lymfocytů a ostatních leukocytů se mění vlivem infekcí a patogenů ve prospěch monocytů a neutrofilních granulocytů (monocytóza, granulocytóza) (Drastichová a kol., 2004; Piačková a kol., 2014).

Jejich hlavní funkcí je zapojení do buněčné (T-lymfocyty) a protilátkové (B-lymfocyty) imunity (Donner, 1985).

V rámci lymfocytární vývojové řady jsou prvním stupněm kmenové buňky - lymfoblasty. Vyznačují se velikostí 10 – 15 μm , oválným tvarem a jádrem s výraznými jadérky a vláknitou cytoplazmou bez granul. Dalším stupněm jsou prolymfocyty, které již mají pouze úzký cytoplazmatický lem a jadérka se stávají pro běžně používané mikroskopy neviditelnými. V dalších fázích se buňka lymfocytu zmenšuje a v důsledku toho dochází k zahušťování cytoplazmy i karyoplazmy (Schalm a kol., 1975; Svobodová a kol., 1986).



Obrázek č. 4: Lymfocyty kapra obecného (foto: A. Nádaský).

Monocyty

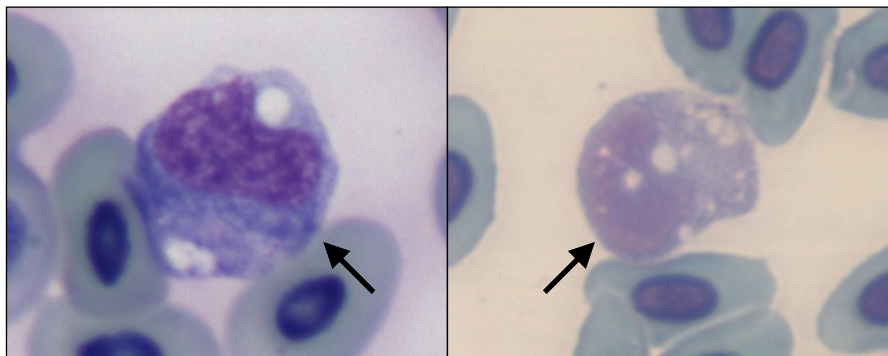
Monocyty zařazujeme mezi agranulocytární bílé krvinky. Běžná velikost tohoto subtypu bílých krvinek je 15 až 18 μm a ve výjimečných případech i více. Jedná se o jedny z nejobemnějších krevních elementů. Nucleus monocytu je v buňce uložen excentricky a jeho tvar může být obloukovitý až okrouhlý. V porovnání s lymfocyty není karyoplazma tolik zahuštěná a v důsledku jejího utváření do síťové struktury jsou

v jádře pozorovány výrazné uzly (Svobodová a kol., 1986; Edsall, 1999). Cytoplazma monocytů se vyznačuje našedivělým zabarvením, nepravidelnými okraji a výraznou mírou vakuolizace (viz Obr. č. 5). Zpravidla se v cytoplazmě monocytů rovnoměrně vyskytují azurofilní zrna (Svobodová a kol., 1986; Pravda a Svobodová, 2003).

Dle Svobodové a kol. (1986) je procentické zastoupení monocytů v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek kapra 3 – 5 %. Tento poměr se navyšuje ve prospěch monocytů, jak již bylo zmíněno dříve, v průběhu onemocnění a infekce. Druhotně může k domnělé monocytóze dojít i v důsledku poklesu množství lymfocytů, aniž by absolutní počet monocytů v krvi vzrostl. (Drastichová a kol., 2004; Witeska a kol., 2010b; Piačková a kol., 2014).

Zapojení monocytů do imunitní reakce organismu ryb spočívá především v makrofágii, přesněji cílené makrofágii velkých částic pro tělo nepůvodních látek a vysokomolekulárních koloidních částic. Monocyty také pohlcují staré a nestandardní erytrocyty a přeměnou jejich hemoglobinu druhotně produkují bilirubin. Výraznou měrou monocyty přispívají k syntéze lipidů a bílkovin a nezanedbatelná je i jejich spoluúčast na produkci protilátek (Svobodová a kol., 1986, Pravda a Svobodová, 2003).

V rámci monocytární vývojové řady jsou prvním stupněm mateřské buňky - monoblasty. Monoblasty dosahují rozměrů 14 – 18 μm , mají jádro s výraznou vláknitou strukturou a nepatrné množství bazofilní cytoplazmy. Postupným dozráváním vzniká promonocyt, jehož jádro má ledvinovitý tvar, taktéž vláknitou strukturu a v cytoplazmě se vykytují malá azurofilní granula. Velikostně promonocyty dosahují až 20 μm (Svobodová a kol., 1986, 2012).



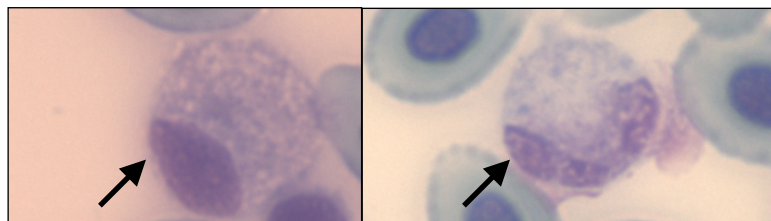
Obrázek č. 5: Monocyty kapra obecného (foto: A. Nádaský).

Neutrofilní granulocyty

Mezi neutrofilní granulocyty jsou řazena také veškerá vývojová stadia těchto buněk, jejichž jednotným rysem je výskyt granulí, jež partikulárně nebo kompletně vyplňují prostor cytoplazmy v okolí buněčného jádra. Konkrétně se jedná o myelocyty, metamyelocyty, neutrofilní „tyčky“ a neutrofilní „segmenty“. Zmiňovaná stadia jsou rozdělována na základě markantních rozdílů ve tvaru jádra, k nimž dochází na základě postupného vyzrávání buněk (Svobodová a kol., 1986; Pravda a Svobodová, 2003). Jako o neutrofilních je o nich hovořeno díky skutečnosti, že již zmiňovaná granula se významně nezbarví při vlivu acidních a bazických barviv (Piačková a kol., 2014). Velikost neutrofilních granulocytů v krvi kapra obecného je dle Svobodové a kol. (1986) 5 – 10 μm . Imagawa a kol. (1989) však popisuje v krvi téhož druhu neutrofilní granulocyty dosahující průměru buňky až 15 μm . Buňky jsou výhradně kulaté, někdy však mohou být i mírně elipsovité (viz Obr. č. 6) (Ainsworth, 1992).

V krvi ryb zastupují neutrofily největší podíl ze všech granulocytů (Genten a kol., 2009). Dle Svobodové a kol. (2012) se v krvi *Teleostei* jejich procentické zastoupení pohybuje v intervalu 2 – 10 % a v krvi *Chondrostei* 20 – 25 %. V literatuře se však hodnoty zjištěného procentuálního zastoupení významně liší. Dle Svobodové a kol. (2012) je důvodem těchto rozdílů skutečnost, že množství neutrofilních granulocytů výrazně podléhá vnějším vlivům. Příkladem takového vlivu může být chorobný stav ryby, při kterém se jejich množství zvyšuje (Svobodová a kol., 1994).

Nejvýznamnější funkcí neutrofilů je jejich schopnost absorbovat pevné elementy, neboli fagocytóza (Ainsworth, 1992). Neutrofily jsou primárně migrující leukocyty do infekcí zasažených částí organismu. Lokálně zklidňují akutní fázi infekce a též ji léčí cytotoxickými a antimikrobiálními látkami, jež produkují (Donner, 1985; Rieger a Barreda, 2011).



Obrázek č. 6: Neutrofilní myelocyt (vlevo) a neutrofilní „segment“ (vpravo) kapra obecného (foto: A. Nádaský).

Eozinofilní granulocyty

Tvar buňky eozinofilů, jež dosahuje v průměru velikosti 8 – 12 μm , je převážně okrouhlý. Jádro buňky je řidší, excentricky uložené, nepatrně bazofilní. V cytoplazmě se vyskytuje enormní množství eozinofilních granul, která prakticky překrývají celou plochu cytoplazmy. Cytoplazma eozinofilů vykazuje slabou acidofilii (Svobodová a kol., 1986; Pravda a Svobodová, 2003). Eozinofilní granula, jejichž velikost je až 1 μm , se při použití acidických barviv obarvují do výrazných cihlově červených odstínů (Svobodová a kol., 1986; Imagawa a kol., 1989).

V diferenciálním rozpočtu leukocytů zajímají eozinofilní granulocyty dle Svobodové a kol. (1986) 0 – 1 %. Modrá (1999) uvádí, že průměrná hodnota zastoupení eozinofilů v krvi tržních kaprů je $0,1 \pm 0,19$ %. Takto nízké hodnoty jsou výsadou *Teleostei*. U *Chondrostei* jsou tyto granulocyty běžnější. V jejich krvi tvoří dle Palíkové a kol. (1999) 3 – 5 % z celkového množství bílých krvinek.

Základní devízou eozinofilů je jejich detoxikační vliv. Ten je s největší pravděpodobností způsobován působením histaminu obsaženého v eozinofilních granulech (Neff, 1985).

Bazofilní granulocyty

Buňka bazofilů se vyznačuje okrouhlým tvarem a velikostí kolem 10 μm . Jádro je asymetricky uloženo, řídké a vykazuje bazofilii. V cytoplazmě buňky se vyskytuje vysoké množství granul, jež mohou dosahovat velikostí 0,6 – 1,5 μm a po obarvení se vyznačují výraznou purpurovou barvou s nádechy modro-černých odstínů (Svobodová a kol., 1986; Imagawa a kol., 1989).

V krvi ryb se jedná o leukocyty s nejmenším procentickým zastoupením. V mnoha případech je jejich záchyt v krvi ryb blízký 0 %. Pokud se již v krvi nějaké bazofilní granulocyty vyskytují, jejich množství zpravidla nepřekračuje hranici 0,5 % (Svobodová a kol., 1986). Jedním z důvodů tak nízkých nálezů bazofilů by dle Suzukiho (1986) mohl být fakt, že v průběhu zpracování krevních nátěrů dochází k destrukci bazofilních granul kvůli vysoké míře jejich rozpustnosti.

O funkcích a principech účinku bazofilních granulocytů je i v dnešní době známo velmi málo. Jednou z uváděných funkcí bazofilů je účast na alergických procesech, ve kterých využívají histamin, jež je v nich obsažený (Svobodová a kol., 1986).

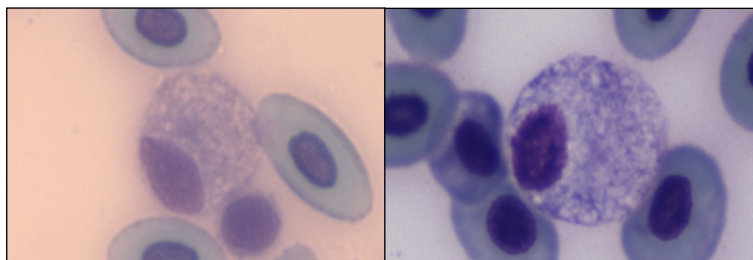
Heterofilní granulocyty

Tento typ granulocytů je popisován jen některými autory. Jedná se o buňky podobné velikosti jako neutrofilní granulocyty (5 – 10 μm) s cytoplazmou, jež obsahuje lehce fialová či eozinofilní granula (Rey Vázquez a Guerrero, 2007; Rey Vázquez a Lo Nostro, 2014). Dle Piačkové a kol. (2014) se však v rámci institucí v České republice, jež se ichthyohematologií zabývají, heterofilní granulocyty nikterak nesledují a nevyhodnocují.

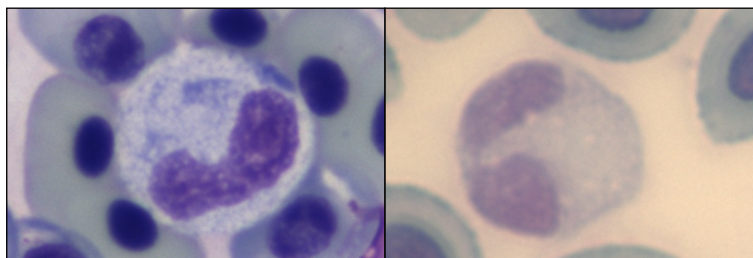
O jejich funkci se i v dnešní době stále ví velmi málo (Piačková a kol., 2014).

Granulocytární vývojová řada

V rámci granulocytární vývojové řady jsou prvním stupněm kmenové buňky - myeloblasty. Ty dosahují velikosti 8 – 14 μm . Majoritní objem buňky zabírá jádro se síťovitou strukturou. Cytoplazma tvoří souvislý, ale slabý lem okolo celého jádra. V tomto stádiu doposud neobsahuje granula a je výrazně bazofilní. Dalšími stupni jsou myelocyt a promyelocyt. Ty se vyznačují nárůstem velikosti na 25 – 28 μm , hrubším nucleem, expozicí granul v cytoplazmě, která již tvoří výrazně velký lem okolo jádra. Ve stádiu myelocytu dochází k pozvolnému zvratu z bazofilie na acidofilii (Svobodová a kol., 1986). Dalším v pořadí je metamyelocyt. U tohoto stádia lze pozorovat postupné zmenšování buňky, přesun jádra k periferním částem buňky a přeměnu tvaru jádra z kulatého na ledvinovité (Svobodová a kol., 1986; Piačková a kol., 2014). Dalším dozráváním metamyelocytů vznikají buňky s tyčinkovitým jádrem, též popisované jako „tyčky“, a buňky se segmentovaným jádrem, označované jako „segmenty“ (viz Obr. č. 7; 8) (Svobodová a kol., 1986; Modrá a kol., 1998).



Obrázek č. 7: Neutrofilní myelocyt (vlevo) a neutrofilní metamyelocyt (vpravo) kapra obecného (foto: A. Nádaský).



Obrázek č. 8: Neutrofilní „tyčka“ (vlevo) a neutrofilní „segment“ (vpravo) kapra obecného (foto: A. Nádaský).

2.4.7. Krvetvorba ryb

Tvorba krve u ryb neprobíhá v kostní dřeni, tak jak je tomu u savců. Hlavními krvetvornými (hemopoetickými) orgány jsou v larválním stádiu předledviny (*pronephros*) a v adultním stádiu prvoledviny (*mezonephros*). Tyto orgány jsou svou strukturou velice blízké struktuře savčí kostní dřene (Pravda a Svobodová, 2003). Dalšími hemopoetickými orgány jsou slezina (*lien*), játra (*hepar*), endotel krevních cév (*vasa sanguinea*) a do dosažení adultního věku i brzlík (*thymus*) (Pecka, 1995; Dubský a kol., 2003). Hematopoéza však není jedinou funkcí těchto orgánů. Fungují též jako rezervoáry krve, která je využívána při akutní potřebě zvýšeného množství krve v krevním řečišti (Pravda a Svobodová, 2003).

Intenzita hematopoézy je u ryb ovlivňována širokým spektrem faktorů, jako například: nasycení vody kyslíkem, teplota vody, diurnální rytmus, sezónnost, kvalita krmiva a množství nutričních látek v něm, stáří a pohlaví ryb, fáze reprodukčního cyklu, zdravotní stav a celkový kondiční stav (Lusková, 1997; LeBreton a kol., 2004).

Erytropoéza (tvorba a vývoj erytrocytů)

Prvním stupněm v procesu vývoje červených krvinek je prekursorová buňka - proerytroblast. Buňka o velikosti 15 – 20 μm se vyznačuje kulovitým až oválným tvarem. Štěpením proerytroblastu vznikají erytroblasty. V tomto stupni tvorby erytrocytů začíná syntéza hemoglobinu. Předposledním vývojovým stádiem jsou retikulocyty. V buňce retikulocytů jsou obsaženy rudimenty endoplazmatického retikula a ribozomy a z celkového množství červených krvinek v krvi tvoří přibližně 1 %. Postupným procesem dozrávání se retikulocytu pozměňuje tvar a po dokončené přeměně je o buňce pojednáváno jako o erytrocytu (Hawkins a Mawdesley-Thomas, 2006).

Leukopoéza (tvorba a vývoj leukocytů)

Buňky vznikající v procesu leukopoézy jsou mezenchymového původu (Pravda a Svobodová, 2003). Leukopoéza je dělena na podtypy dle toho, jaký typ bílé krvinky je produkován. Lymfocytární, monocytární a granulocytární vývojové řady jsou již popsány v odstavcích, jež se podrobně věnují jednotlivým typům bílých krvinek (viz str. č. 33; 34; 37).

2.5. Stabilizace krve a metody využívané k jejímu odběru

2.5.1. Stabilizace krve

K zamezení koagulace krve se přistupuje v případech, kdy odebraný vzorek bude využit ke studování bílého a červeného krevního obrazu či biochemického profilu krevní plazmy. Pokud je k následným analýzám vyžadováno krevní sérum, nejsou antikoagulační látky použity, protože k získání krevního séra je nutná koagulace krve (Kolářová a Velíšek, 2012).

V ichtyohematologii je nejhojněji využíváno k těmto účelům sodné soli heparinu (Hesser, 1960). Konkrétně se jedná o vodný roztok této sodné soli. V ČR je dostupný v lékárnách jako Heparin inj. 5 000 IU·ml⁻¹ pouze na lékařský předpis. K docílení zastavení koagulace krve kapra je v průměru potřeba 50 IU·ml⁻¹ krve, respektive tedy 0,01 ml přípravku Heparin inj. na 1 ml odebrané krve (Pravda a Svobodová, 2003;

Kolářová a Velíšek, 2012; Svobodová a kol., 2012; Piačková a kol., 2014). Potřebné množství heparinu je druhově specifické. Výrazně větší množství heparinu je potřeba např. při práci s krví okouna říčního (*Perca fluviatilis*) či candáta obecného (*Sander lucioperca*). U těchto druhů je poměr ředění heparinu a krve 1 : 8 ve prospěch krve (Piačková a kol., 2014). Podstatné je provést vypláchnutí heparinem u všech pomůcek, jež slouží k odběru a nashromáždění odebrané krve (stříkačky, kapiláry, injekční jehly). Tyto pomůcky mají na svých stěnách slabý film zbylého heparinu, který v nich zaschnul poté, co byly heparinem propláchnuty (Svobodová a kol., 1986; Pravda a Svobodová, 2003; Kolářová a Velíšek, 2012).

Odebrané vzorky v heparinizovaných laboratorních pomůckách je nutné skladovat při teplotě nepřesahující 4 °C. Nesprávné skladování odebraných vzorků může vést k jejich částečnému, ale i totálnímu znehodnocení (Kolářová a Velíšek, 2012).

2.5.2. Metody odběru krve ryb

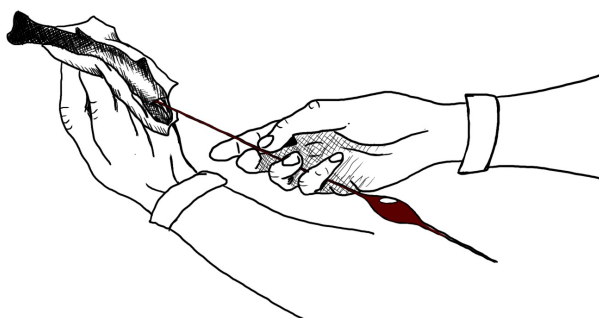
Odběr vzorků krve ke stanovení hematologických parametrů je důležité provádět bez prodlení po vylovení ryby z odchovné nádrže či z volného prostředí. Hlavním důvodem k neprodlenému odběru krve je zamezení nadbytečnému stresu ryb a také snížení rizika hemolýzy (rozpadu červených krvinek) (Kolářová a Velíšek, 2012). Metoda pro odběr vzorku krve je volena na základě několika kritérií. Těmi jsou: vzrůst ryby, potřebné množství krve a další osud ryb, kterým byla krev odebírána (Svobodová a kol., 1986). V případě, že od daných jedinců bude zapotřebí odebírat krev opakovaně, je nutné odebírat pouze nezbytně nutný objem krve. Celý proces odběru vzorků je nutné dělat v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů) (Kolářová a Velíšek, 2012). Pokud to není komplikace pro následné analýzy, je nutné využití anestezie ryb. Zejména u ryb s velkou hmotností tento postup umožňuje lepší a šetrnější manipulaci a snížení rizika poranění (Pravda a Svobodová, 2003).

Odběr krve u jedinců do 8 g tělesné hmotnosti

Od jedinců do 8 g hmotnosti je možné odebrat pouze velmi omezený objem krve (Piačková a kol., 2014). U těchto jedinců je přistupováno k amputaci ocasního násadce. Nutností je použití dokonale ostrých pitevních pomůcek. Ty zaručí čistý řez a maximalizují tak získatelný objem krve (Pravda a Svobodová, 2003; Piačková a kol., 2014).

Odběr krve u jedinců v rozmezí 8 – 20 g tělesné hmotnosti

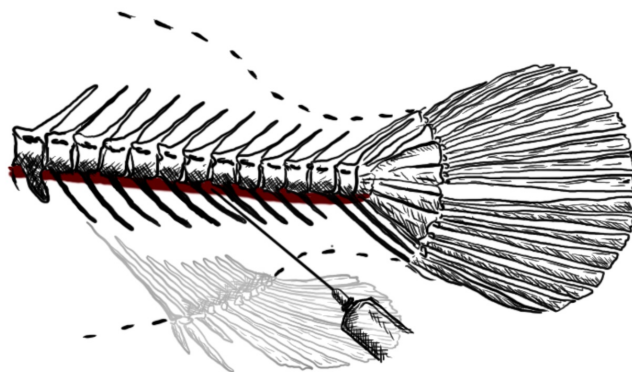
Zajištění vzorku krve u ryb v tomto hmotnostním rozmezí je prováděno za pomoci metody kardiopunkce - odběr krve přímo ze srdce ryby (Piačková a kol., 2014). Pro účely odběru je využíváno tenkých, skleněných a heparinizovaných kapilár o délce přibližně 200 mm. Odlovení jedinci se fixují v ruce odebírajícího hřbetní částí těla v dlani. Před samotným zavedením kapiláry do těla je nutné provézt osušení místa vpichu. Vpich kapiláry se provádí pod sklonem 60 ° v místě stigmatu (viz Obr. č. 9). Stigma je rudimentem po místě, kudy v období výživy ze žloutku proudily živiny do těla. Po správném napíchnutí srdce začne do kapiláry pod hydrostatickým tlakem v pravidelných intervalech proudit krev. U takto malých jedinců je kapilára zaváděna do hloubky cirká 3 – 4 mm. Následky této metody jsou s životem neslučitelné a proto je nutné okamžitě po dokončení odběru konkrétního jedince humánně usmrtit (Svobodová a kol., 1986, 2012; Kolářová a Velíšek, 2012).



Obrázek č. 9: Odběr krve ryb s využitím metody kardiopunkce za pomoci heparinizované kapiláry (kresba: P. Motlová).

Odběr krve u jedinců nad 20 g tělesné hmotnosti

U takto vzrostlých jedinců se k odběru krve využívá metody punkce ocasních cév. Jedná se o optimálnější metodu odběru krve ryb z hlediska jejich šance na přežití. Z tohoto důvodu je tato metoda využívána i v případech nutnosti vzorkování generačních a vysoce ceněných ryb (Svobodová a kol., 2012). Ke vzorkování se využívá heparinizovaných injekčních jehel a stříkaček. Průsvit jehly se volí na základě velikosti vzorkované ryby. Největší uplatnění však mají jehly s průsvitem 8 – 12 μm (Piačková a kol., 2014). Před samotným odběrem je potřebné osušit místo vpichu. Následně se jehla vpravuje do těla ryby v ose páteře pod sklonem 45 ° kranio-dorzálně (viz Obr. č. 10). V okamžiku punkce ocasní tepny, či žíly, které se nacházejí těsně pod páteří, je krev vytažením pístu nasáta do stříkačky. Po odběru potřebného objemu krve se provede šetrné vyjmutí injekční jehly z těla ryby (Svobodová a kol., 1986, 2012). Z důvodu prevence je důležité nezanedbat dezinfekci. Lze provádět lokální dezinfekci nebo dezinfekci pomocí koupele vzorkovaných ryb v roztoku manganistanu draselného (KMnO_4) (Svobodová a kol., 2007, 2012; Kolářová a Svobodová, 2009).



Obrázek č. 10: Odběr krve ryb s využitím metody punkce cév ocasních za pomoci heparinizované injekční jehly (kresba: P. Motlová).

2.6. Rozdíly hematologických parametrů mezi plemeny, liniemi a populacemi, zaznamenané u ryb a některých druhů teplokrevných živočichů

Porovnáváním hematologických parametrů mezi plemeny, liniemi, varietami, nebo populacemi jednotlivých druhů se zabývá několik publikovaných vědeckých studií. Například Papežíková a kol. (2018) porovnávali hematologické, biochemické a imunitní parametry u dvou geneticky odlišných linií pstruha duhového chovaných v recirkulaci dánského typu na jedné farmě v souvislosti s pozorovanou rozdílnou vnímavostí k proliferativnímu onemocnění ledvin (Proliferative Kidney Disease; PKD). Zjistili, že mezi linií importovanou ze Severního Irska a druhou, pocházející z Itálie, byl statisticky významný rozdíl v celkovém počtu leukocytů (WBC) ve prospěch italské linie. Kromě hematologického bylo provedeno i biochemické vyšetření plazmy obou zmíněných linií, které prokázalo vyšší koncentrace amoniaku, albuminu, vápníku a laktátu rovněž u ryb pocházejících z Itálie.

Pstruhy duhovými, respektive rozdíly v hematologických parametrech faremně chovaných populací z Itálie a z Turecka, se zabývá práce Fazio a kol. (2016). U pstruhů pocházejících z Itálie byl zjištěn třikrát nižší průměrný počet erytrocytů než u tureckých pstruhů (1,55 vs. 4,45 T.l^{-1}), a s tím související nižší hodnota hematokritu (29,67 vs. 37,40 l.l^{-1}), která však byla do značné míry kompenzována dvojnásobně větším objemem erytrocytu (MCV) u italských pstruhů oproti tureckým (190,80 vs. 85,66 fl). Sami autoři však ve své práci uvádějí, že některé změny mohly být vyvolány rozdílností chovného prostředí.

Druhu cípal hlavatý (*Mugil cephalus*) se věnuje práce Fazio a kol. (2012). V této studii bylo porovnávána krev téhož druhu, ale dvou různých populací (italská a indická populace). U jedinců z Itálie byly oproti jedincům z Indie stanoveny nižší hodnoty v následujících hematologických parametrech: WBC (18,30 vs. 28,14 $10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$), MCV, MCH (29,83 vs. 148,40 pg) a MCHC (26,88 vs. 129,20 g.l^{-1}). Naopak vyšší hodnoty v porovnání vykazovala italská populace v hodnotách RBC (3,53 vs. 2,51 $10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$) a PCV (39,60 vs. 28,06 %). Dle autorů je popsána rozdílnost WBC je pravděpodobně způsobena statisticky významným rozdílem ve velikosti mezi sledovanými skupinami

ryb. Toto tvrzení je podloženo studií Zhou a kol. (2009), která uvádí, že hodnota WBC je ovlivňována mnoha faktory a jedním z nich jsou i biometrické ukazatele. Autoři též uvádějí, že stanovené rozdílnosti mohlo zapříčinit i to, že ryby nebyly v průběhu života vystaveny totožným fyzikálně-chemickým podmínkám.

Ahmed a Sheikh (2020) se ve své práci věnují studii hematologických parametrů *Schizopyge plagiostomus* a *Schizopyge niger* obývajících dva různé biotopy. Tento rybí rod je v rámci české literatury těžce dohledatelný a nepříliš zmiňovaný. České pojmenování rodu je marinka. U druhu *S. plagiostomus* byly zaznamenány významně vyšší hodnoty hemoglobinu, počtu červených krvinek a hematokritu ve srovnání s druhem *S. niger*. Naopak hodnoty počtu trombocytů, leukocytů a středního objemu erytrocytu byly vyšší u *S. niger* oproti *S. plagiostomus*. Rozdílnosti mezi jednotlivými druhy mohou být dle autorů studie způsobeny odlišnými vlivy životního prostředí ryb, rozdílnou aktivitou metabolismu a aktivitou fyziologickou. V rámci studie byla popsána i morfologická rozdílnost erytrocytů. *S. niger* vykazuje v porovnání výrazně větší erytrocyty.

Práce Suljeviće a kol. (2016) se věnovala stanovení hematologických parametrů kapra obecného a karase obecného (*Carassius carassius*) ze dvou různých lokalit a porovnání zjištěných hodnot mezi zmíněnými druhy. V krvi kapra obecného byly zjištěny výrazně nižší hodnoty V krvi kapra obecného byly zjištěny výrazně nižší hodnoty PCV, koncentrace hemoglobinu, RBC a MCV a výrazně vyšší hodnoty MCHC a WBC ve srovnání s karasem obecným. Dle autorů práce je tento předběžný výzkum důležitý pro stanovení referenčního rozmezí hematologických parametrů u kaprovitých ryb.

Jednou ze studií zabývajících se porovnáním hematologických faktorů mezi teplokrevnými živočichy je kupříkladu publikace Bílkové a kol. (2017). Tato publikace se věnuje hematologickým rozdílnostem mezi plemeny kura domácího. Mezi plemeny Araucana, Rousná zakrslá slepice, Česká slepice zlatá kropenatá, Minorca a Bantamka byly zjištěny významné rozdíly v absolutních hodnotách erytrocytů a leukocytů, ale i v procentickém zastoupení jednotlivých typů bílých krvinek. V případě lymfocytů se tato hodnota mezi plemeny lišila i o více jak 20 % (Bílková a kol., 2017).

Obdobným studiím jsou podrobována i plemena psů. Jednou z nich je například studie porovnávající krevní parametry zdravých jedinců labradorského retrívra a špice. Ta však mezi těmito plemeny psů nepopsala žádnou statisticky významnou rozdílnost v rámci určených hematologických parametrů (Dash a kol., 2013).

3. Materiál a metodika

Diplomová práce je zaměřena na „Vliv plemenné příslušnosti na hodnoty hematologických parametrů u kapra obecného“. Hlavním cílem projektu bylo zjistit a popsat případné rozdílnosti v ichtyohematologických faktorech mezi plemeny a plemennými hybridy kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Tato studie byla zahrnuta v rámci studie vlivu CEV na různá plemena kapra obecného. Experiment a následný průběh studie byl proveden ve Výzkumném ústavu rybářském a hydrobiologickém při Fakultě rybářství a ochrany vod ve Vodňanech.

3.1. Materiál

K účelům studie bylo využito 5 skupin kaprů (meziplemenní hybridy ROP × TAT a HSM × AL, plemena Amurský sazan a syntetická linie maďarských lysců a koi kapr). Všechna uvedená plemena a kapr koi jsou detailně popsána v kapitole 2.4. V rámci každé skupiny bylo stanovení krevních parametrů provedeno u 9 kusů ryb. Konkrétně bylo tedy využito v rámci studie 45 ks kapra obecného ve stáří 1 roku o průměrné váze $40,22 \pm 13,09$ g.

3.1.1. Průběh odchovu ryb

Násadový materiál byl zajištěn z líhňářského objektu Genetického rybářského centra FROV. Ryby ve stádiu rozplavaného plůdku byly transportovány do akvarijní místnosti laboratoře infekčních nemocí ryb VÚRH. Zde byl prováděn jejich následný odchov. Ryby byly chovány zpočátku v akváriích, poté v laminátových nádržích s recirkulací. V době odběru vzorků krve byly skupiny ryb umístěny odděleně v koších ve 3 identických nádržích (v každé nádrži 5 košů) při teplotě 16 °C. Ryby byly krmeny 2x denně krmivem Coppens Grover 13 EF v adekvátní velikosti pelet. Pro odběr vzorků byly náhodně vybrány vždy 3 ryby z každého koše.

Čistota a zdravotní nezávadnost vody byla v celém průběhu odchovu zajišťována mechanickým filtrem (Štěrbínový filtr AquaForte CompactSieve II) a biologickým filtrem s médiem Caldness.

3.2. Metodika

3.2.1. Odlov ryb, určení plemenné příslušnosti a morfologické ohledání

Odlovení jedinců pro účely experimentu proběhlo 10. 6. 2021. Jedinci vybraní pro odběr krevních vzorků byli zváženi za pomoci digitální váhy, tyto hodnoty byly zapisovány.

U odlovených jedinců bylo neprodleně provedeno morfologické ohledání těla. Jedinci, jež vykazovali jakékoliv známky tělesných abnormalit, poruch či nestandardního tělesného vzhledu, byli z experimentu vyřazeni a nahrazeni jedinci, jež tyto známky nevykazovali.

3.2.2. Odběr vzorků krve

U vybraných exemplářů byl proveden odběr krve z ocasních cév pomocí heparinizované injekční jehly a stříkačky dle metodiky Svobodové a kol. (1986). Odebraná krev byla bezprostředně po odběru napipetována do Hayemova roztoku (25 μ l krve do 4975 μ l roztoku), do transformačního roztoku (20 μ l krve do 5 ml roztoku) a natažena do heparinizovaných hematokritových kapilár. Zároveň byl z kapky krve zhotoven krevní nátěr. Zbývající krev (cca 1 ml) byla naplněna do mikrozkušavek typu Eppendorf s přídavkem heparinu a při teplotě 4 - 8 °C uchována do dalšího zpracování. Každá ze zkumavek byla viditelně popsána unikátním číselným označením. Využití jedinci byli po odebrání krevních vzorků následně usmrceni úderem do hlavy s následným vykrvením a jejich tkáně byly využity k dalším analýzám. Celý tento proces byl proveden v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání (č. 246/1992 Sb., ve znění pozdějších předpisů).

3.2.3. Metodiky stanovení ichtyohematologických parametrů

Zpracování odebraných vzorků bylo provedeno neprodleně po dokončení odběru vzorků. Tímto akutním zpracováním bylo předejito možné degradaci krve a sekundárnímu zkreslení zjištěných hodnot. Celý metodický postup byl proveden v laboratoři infekčních nemocí ryb VÚRH.

Stanovení počtu erytrocytů (RBC)

Stanovení počtu erytrocytů bylo provedeno dle metodiky Svobodové a kol. (1986). 25 μ l krve bylo naředěno 4 975 μ l Hayemova roztoku (HgCl_2 – 2,5 g; Na_2SO_4 – 25 g; NaCl – 5 g; H_2O – 1 000 ml). Tato směs byla následně 3 minuty důkladně promíchávána ve skleněných lahvičkách. Za pomoci automatické pipety byla výsledným roztokem naplněna Bürkerova počítací komůrka. Počet erytrocytů byl spočten z 20 obdélníků, jež byly náhodně, ale rovnoměrně rozmístěny po celé počítací komůrce. Zjištěné množství červených krvinek bylo následně vyděleno číslem 100, aby výsledná hodnota byla v T.l^{-1} .

Stanovení hematokritu (PCV)

Základním principem této metody je oddělení plazmy, červených krvinek a leukocytů na základě rozdílné specifické hmotnosti s využitím centrifugy (Hesser, 1960). Krev byla nasáta do tenkých skleněných heparinizovaných kapilár o délce 75 mm. Jeden konec kapiláry byl následně ucpán modelovací hmotou. Následoval proces centrifugace v hematokritové centrifuze po dobu 180 sekund při rychlosti 14 000 $\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}$. Po dokončení centrifugace byla za pomoci hematokritového měřidla odečtena z kapiláry hodnota, udávající procentické zastoupení objemu červených krvinek z celkového objemu. Aby výsledek mohl být uváděn v jednotkách $\text{l} \cdot \text{l}^{-1}$, nikoliv v procentech, byla naměřená hodnota vydělena 100. Detailní popis této metody uvádí Svobodová a kol. (1986, 2012). Pro každý z krevních vzorků byla hodnota hematokritu stanovena dvakrát a za výsledek byl pokládán aritmetický průměr těchto dvou hodnot.

Stanovení hemoglobinu (Hb)

Pro stanovení koncentrace hemoglobinu bylo využito fotometrické metody. Vzorky krve byly naředěny roztokem dle Kampena a Zijlstra ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ – 0,20 g; KCN – 0,05 g; KH_2PO_4 – 0,14 g; H_2O – 1 000 ml) v poměru 20 μ l krve ku 5 ml zmiňovaného roztoku. Po promíchání, jež bylo prováděno po dobu 3 minut, byla vzorkem naplněna kyveta určená pro fotometrické stanovení. Měření absorbance při vlnové délce 540 – 546 nm bylo provedeno na přístroji SPECTRONIC® 20 GENESYS™. Výsledné

hodnoty koncentrace hemoglobinu v $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ byly odečteny z kalibrační křivky, která byla získána měřením koncentrační řady komerčně připraveného kyanohemoglobinového standardu.

Stanovení hodnot MCV, MCH a MCHC

Tyto hodnoty, jež blíže popisují erytrocyty, byly stanoveny na základě výpočtů ze zjištěných hodnot RBC, PCV a Hb dle Doubka a kol. (2003a) a Svobodové a kol. (2012).

Schéma pro stanovení MCV dle Svobodové a kol. (2012):

$$MCV = \frac{PCV [l \cdot l^{-1}] * 1\,000}{RBC [T \cdot l^{-1}]}$$

Schéma pro stanovení MCH dle Svobodové a kol. (2012):

$$MCH = \frac{Hb [g \cdot l^{-1}]}{RBC [T \cdot l^{-1}]}$$

Schéma pro stanovení MCHC dle Doubka a kol. (2003a):

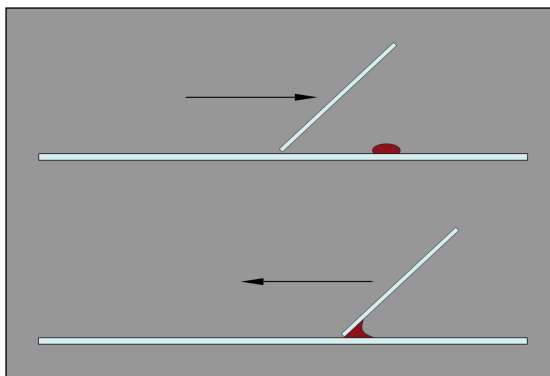
$$MCHC = \frac{Hb [g \cdot l^{-1}]}{PCV [l \cdot l^{-1}]}$$

Stanovení počtu leukocytů (WBC)

Metoda stanovení množství bílých krvinek byla provedena totožným postupem jako stanovení počtu erytrocytů. Pouze počítání bylo provedeno ve 100 velkých čtvercích počítací komůrky. Aby výsledná hodnota odpovídala veličině $\text{G} \cdot \text{l}^{-1}$, byla následně vydělena dvěma. Detailní popis této metody uvádí Svobodová a kol. (1986, 2012).

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů

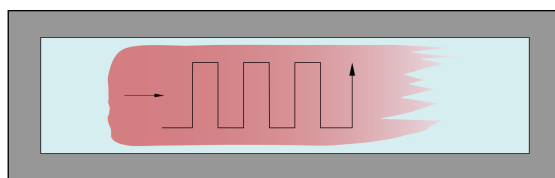
Na kraj odmaštěného podložního sklíčka byla umístěna kapka krve, která byla následně rozetřena druhým sklíčkem se zabroušenou hranou (viz Obr. č. 11). Takto vytvořený krevní nátěr byl následně fixován metylalkoholem. Z každého krevní vzorku byly zhotoveny dva krevní nátěry.



Obrázek č. 11: Grafické znázornění vyhotovení krevního nátěru (kresba: P. Motlová).

Fixované krevní nátěry byly následně barveny komerčním barvicím kitem Hemacolor® dle instrukcí výrobce. Barvení sestává ze čtyř kroků, které spočívají v ponoření nátěru ve čtyřech různých roztocích po předepsanou dobu. Mezi jednotlivými kroky bylo nutno nechat sklíčko řádně okapat, aby nedocházelo k mísení jednotlivých roztoků. Po dokončení všech čtyř kroků byly vzorky usušeny na vzduchu při pokojové teplotě.

Posledním krokem stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů bylo samotné provedení determinace a sečtení jednotlivých typů bílých krvinek v tisícinásobném zvětšení světelného mikroskopu Olympus BX53. Z každého krevního nátěru bylo rozpoznáno a spočteno 200 leukocytů. Z těchto hodnot bylo následně spočteno procentuální zastoupení a celkové množství jednotlivých typů leukocytů. Počítání bylo nutné provádět tak, aby nedošlo k vícenásobnému započtení již jednou započítaného leukocytu. Aby k tomu nedošlo, bylo počítání prováděno meandrovitě (viz Obr. č. 12). Obraz zorného pole byl snímán digitální kamerou a pozorován na monitoru s využitím softwaru Olympus Stream.



Obrázek č. 12: Znázornění systému zkoumání krevního nátěru (kresba: P. Motlová).

3.2.4. Statistické vyhodnocení výsledků

Všechny zjištěné údaje, hodnoty a výsledky byly zaneseny do tabulek v softwarovém řešení Microsoft Excel. Statistické vyhodnocení stanovených hodnot bylo provedeno ve statistickém softwaru Minitab (verze 21.4.0), s využitím jednofaktorového ANOVA testu. Statisticky významné změny byly vyhodnoceny na hladině významnosti $P < 0,05$. Z výsledků statistického vyhodnocení je vyhotovena konečná sumarizace výsledků, jež je podložena podrobným grafickým znázorněním.

4. Výsledky

Do porovnání výsledných hodnot bylo zahrnuto všech 45 jedinců jednoletého kapra obecného. Hodnoty PCV, MCHC a procentuálního zastoupení leukocytů byly stanoveny u všech 45 jedinců. Z důvodu náročnosti a omezené kapacity byly hodnoty RBC, WBC, MCV, MCH a absolutních počtů jednotlivých typů bílých krvinek stanoveny v každé skupině pouze u 6 jedinců.

4.1. Porovnání hematologických parametrů mezi plemeny

Vyhodnocení sledovaných ichthyohematologických parametrů mezi plemeny a plemennými hybridy odhalilo statisticky významné rozdílnosti u hodnot RBC, PCV, Hb a WBC. V prvních třech hodnotách se lišili jedinci skupiny Koi a syntetické linie maďarských lysců (HSM) od skupin ROP $\times$ TAT, HSM $\times$ AL a AS. Skupina HSM a Koi vždy v těchto hodnotách vykazovala nižší hodnoty těchto hematologických parametrů. V případě celkového množství leukocytů bylo popsáno více statisticky významných rozdílů - viz Tab. č. 1. Nejvýrazněji se však lišila skupina kaprů koi. Její hodnota WBC byla ze všech sledovaných skupin nejnižší ($24,00 \pm 16,16 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$).

V rámci hodnot procentuálního zastoupení jednotlivých typů leukocytů byly popsány statisticky významné rozdíly u lymfocytů a metamyelocytů. V případě lymfocytů byl největší rozdíl mezi skupinou HSM a AS. Právě skupina HSM vykazovala vyšší procentuální zastoupení lymfocytů o 4,56 % v porovnání s AS. Signifikantní rozdíl mezi těmito skupinami byl též zaznamenán v zastoupení metamyelocytů. V tomto případě vyšší hodnotu vykazovali jedinci ze skupiny AS a to o 1,72 % - viz Tab. č. 2.

Vyhodnocení celkového množství jednotlivých typů bílých krvinek odhalilo statisticky významný rozdíl pouze absolutních počtech lymfocytů. Na hladině významnosti $P < 0,05$ se statisticky od sebe nejvíce lišila skupina HSM a Koi. Ryby ze skupiny HSM vykazovaly v průměru nejvyšší množství lymfocytů v krvi ($103,46 \pm 30,14 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$), oproti tomu koi kapři měli tuto hodnotu ze všech sledovaných skupin nejnižší ($21,31 \pm 13,71 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$) - viz Tab. č. 3.

Tabulka č. 1: Výsledné hodnoty ichtyohematologických parametrů všech sledovaných skupin ryb. Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka. Rozdíly mezi skupinami označenými odlišným abecedním znakem v horním indexu jsou statisticky významné na hladině $P < 0,05$.

	ROP x TAT	HSM x AL	AS	HSM	Koi
RBC [T·l⁻¹]	2,04 ^a ± 0,30	1,93 ^a ± 0,12	1,89 ^a ± 0,32	1,44 ^b ± 0,31	1,38 ^b ± 0,20
PCV [l·l⁻¹]	0,39 ^a ± 0,02	0,38 ^a ± 0,03	0,39 ^a ± 0,02	0,33 ^b ± 0,04	0,30 ^b ± 0,05
Hb [g·l⁻¹]	96,55 ^a ± 5,19	89,45 ^a ± 6,78	90,25 ^a ± 5,98	85,26 ^b ± 6,45	74,97 ^b ± 15,36
MCV [fl]	193,38 ± 32,81	199,65 ± 24,48	211,52 ± 46,15	233,95 ± 36,58	210,19 ± 21,53
MCH [pg]	49,53 ± 9,43	45,98 ± 5,67	49,79 ± 10,58	61,02 ± 11,81	51,19 ± 9,21
MCHC [l·l⁻¹]	249,17 ± 17,42	235,15 ± 14,51	230,62 ± 14,96	257,39 ± 27,88	251,41 ± 33,35
WBC [G·l⁻¹]	83,83 ^{ab} ± 54,18	54,00 ^{bc} ± 5,06	38,00 ^{bc} ± 9,53	109,67 ^a ± 32,70	24,00 ^c ± 16,16

Tabulka č. 2: Výsledné hodnoty procentuálního zastoupení typů leukocytů všech sledovaných skupin ryb. Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka. Rozdíly mezi skupinami označenými odlišným abecedním znakem v horním indexu jsou statisticky významné na hladině $P < 0,05$.

	ROP x TAT	HSM x AL	AS	HSM	Koi
Lymfo [%]	95,22 ^a ± 1,06	93,11 ^{ab} ± 4,33	90,22 ^b ± 3,68	94,78 ^a ± 2,18	91,28 ^{ab} ± 3,76
Mono [%]	1,44 ± 1,01	1,78 ± 1,23	3,00 ± 1,60	1,28 ± 0,67	2,06 ± 0,88
Mye [%]	0,56 ± 0,63	0,67 ± 0,61	0,89 ± 1,08	0,89 ± 1,02	1,72 ± 1,80
Met [%]	1,39 ^{ab} ± 0,89	1,83 ^{ab} ± 1,64	2,78 ^a ± 1,33	1,06 ^b ± 0,77	2,22 ^{ab} ± 1,06
Tyč [%]	1,06 ± 0,58	2,06 ± 0,88	2,28 ± 1,30	1,83 ± 1,15	2,17 ± 1,12
Seg [%]	0,33 ± 0,35	0,56 ± 0,81	0,83 ± 0,56	0,17 ± 0,25	0,56 ± 0,46

Tabulka č. 3: Výsledné hodnoty celkového zastoupení typů leukocytů všech sledovaných skupin ryb. Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka. Rozdíly mezi skupinami označenými odlišným abecedním znakem v horním indexu jsou statisticky významné na hladině $P < 0,05$.

	ROP x TAT	HSM x AL	AS	HSM	Koi
Lymfo [G.l⁻¹]	80,33 ^{ab} ± 52,39	50,26 ^{bc} ± 3,61	33,69 ^{bc} ± 7,91	103,46 ^a ± 30,14	21,31 ^c ± 13,71
Mono [G.l⁻¹]	1,12 ± 1,33	1,12 ± 0,87	1,42 ± 0,66	1,49 ± 0,87	0,52 ± 0,45
Mye [G.l⁻¹]	0,55 ± 0,71	0,27 ± 0,33	0,27 ± 0,19	0,83 ± 0,97	0,64 ± 1,06
Met [G.l⁻¹]	0,80 ± 0,59	0,91 ± 1,12	1,33 ± 0,71	1,36 ± 1,24	0,71 ± 0,71
Tyč [G.l⁻¹]	0,19 ± 0,24	0,43 ± 0,58	0,42 ± 0,19	0,20 ± 0,34	0,18 ± 0,23
Seg [G.l⁻¹]	0,85 ± 0,93	1,01 ± 0,63	0,87 ± 0,57	2,32 ± 1,87	0,63 ± 0,54

4.2. Porovnání hematologických parametrů mezi skupinami ryb šupinatých a lysých

V rámci tohoto vyhodnocení byly do skupiny ryb šupinatých zařazeny jedinci AS a ROP × TAT a do skupiny ryb lysých jedinci ze skupin HSM a HSM × AL. Jedinci kapra koi nebyli do tohoto porovnání zahrnuti.

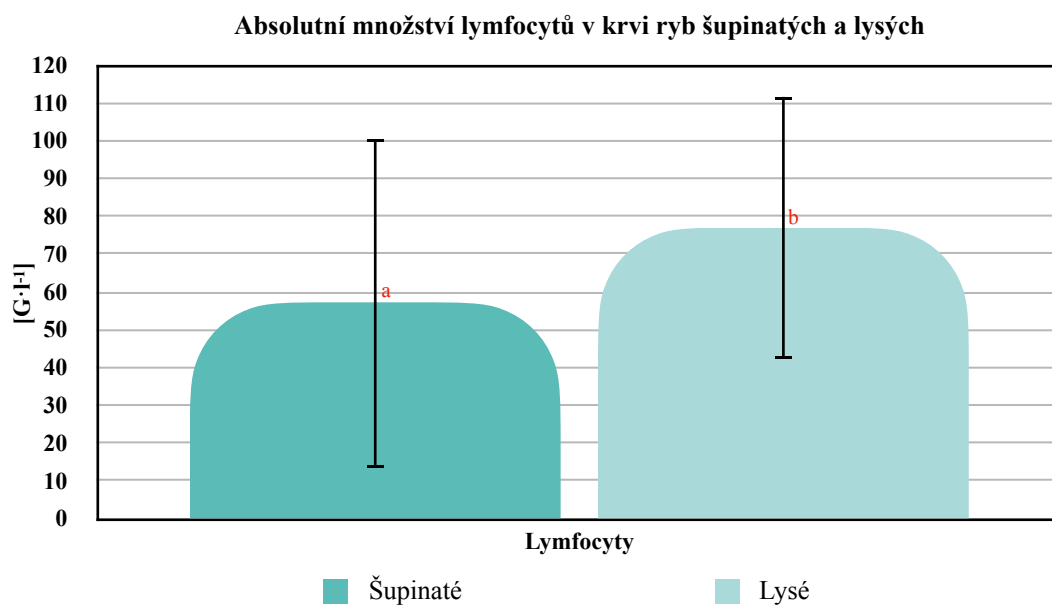
Statistické vyhodnocení hematologických parametrů na hladině významnosti $P < 0,05$ odhalilo rozdíly mezi těmito skupinami v hodnotách RBC, PCV, Hb a WBC. Hodnoty počtu červených krvinek, hematokritu a koncentrace hemoglobinu byly v průměru vyšší u ryb šupinatých (viz Tab. č. 4). I když změny byly popsány u faktorů z nichž jsou následně dopočítávány parametry MCV, MCH a MCHC, nebyla u těchto parametrů odhalena statisticky významná odlišnost. Hodnota WBC byla jedinou ze jmenovaných, která vykazovala nižší hodnoty u ryb šupinatých. Ryby šupinaté měly v průměru $60,92 \pm 44,14 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$ leukocytů, naopak ryby lysé $81,83 \pm 36,64 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$.

Posouzení procentuálního zastoupení subtypů bílých krvinek neprokázalo žádné signifikantní rozdíly mezi rybami šupinatými a lysými.

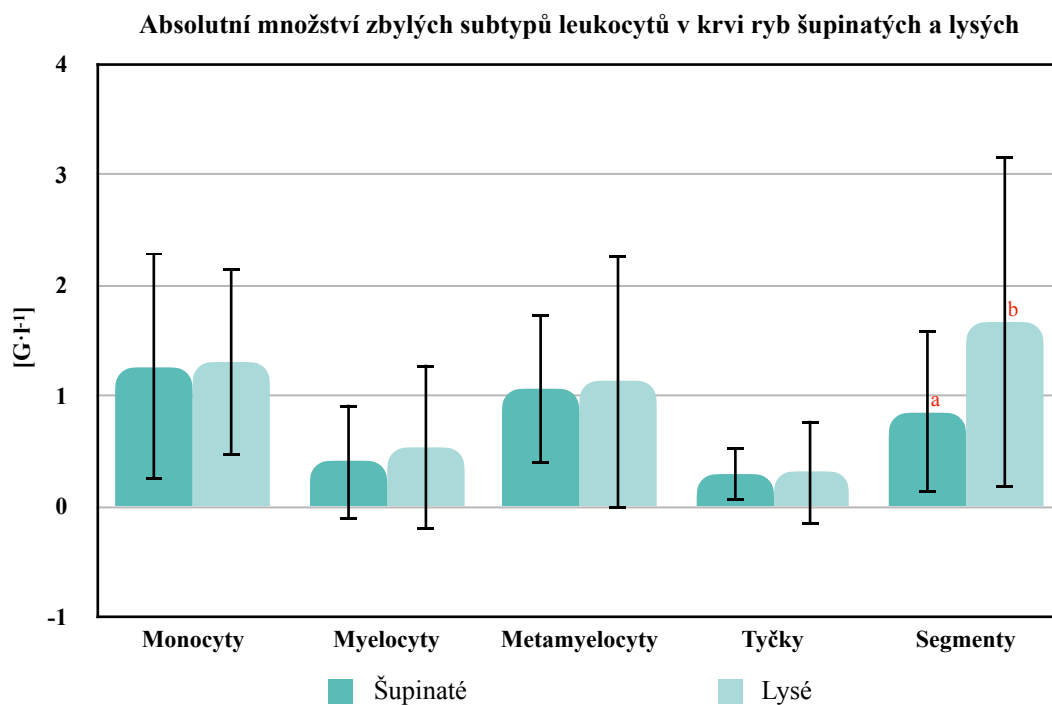
Statistické porovnání však odhalilo významné rozdíly v absolutních počtech jednotlivých subtypů bílých krvinek. Šupinaté ryby měly o $19,85 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$ lymfocytů méně než ryby lysé (viz Graf č. 1) a o $0,8 \text{ G} \cdot \text{l}^{-1}$ méně segmentů (viz Graf č. 2).

Tabulka č. 4: Výsledné hodnoty ichthyohematologických parametrů mezi rybami šupinatými a lysými. Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka. Rozdíly mezi skupinami označenými odlišným abecedním znakem v horním indexu jsou statisticky významné na hladině $P < 0,05$.

	Šupinaté	Lysé
RBC [$\text{T} \cdot \text{l}^{-1}$]	$1,96^a \pm 0,31$	$1,69^b \pm 0,34$
PCV [$\text{l} \cdot \text{l}^{-1}$]	$0,39^a \pm 0,02$	$0,36^b \pm 0,04$
Hb [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]	$93,40^a \pm 6,33$	$87,36^b \pm 6,77$
MCV [fl]	$202,45 \pm 39,33$	$216,80 \pm 34,66$
MCH [pg]	$49,66 \pm 9,55$	$53,50 \pm 11,82$
MCHC [$\text{l} \cdot \text{l}^{-1}$]	$239,89 \pm 18,42$	$246,27 \pm 24,41$
WBC [$\text{G} \cdot \text{l}^{-1}$]	$60,92^b \pm 44,14$	$81,83^a \pm 36,64$



Graf č. 1: Hodnoty absolutního množství lymfocytů v krvi ryb šupinatých a lysých.



Graf č. 2: Hodnoty absolutního množství zbylých subtypů leukocytů v krvi ryb šupinatých a lysých.

4.3. Porovnání hematologických parametrů mezi jedinci koi kapra a produkčními plemeny kaprů

V rámci tohoto porovnání byla porovnávána skupina kaprů koi (9 ks ryb) oproti skupině jež zahrnovala veškeré zbylé jedince z pokusu (36 ks ryb).

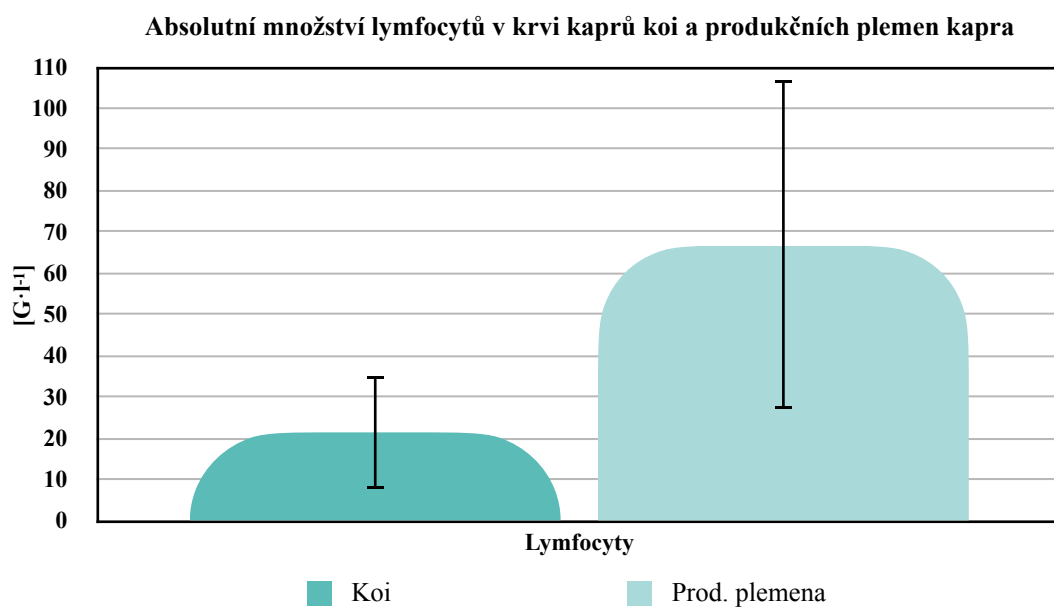
Na základě výsledných hodnot a statistického vyhodnocení byly v rámci ichthyohematologických parametrů stanoveny rozdílnosti v hodnotách RBC, PCV, Hb a WBC. Ve všech případech byla vyšší hodnota popsána u ryb produkčních plemen. Nejvýraznější rozdíl byl v hodnotě celkového počtu bílých krvinek. Hodnota tohoto parametru je u skupiny produkčních plemen kaprů bezmála trojnásobná oproti průměrné hodnotě tohoto parametru u kaprů koi. Výsledné hodnoty a statistické vyhodnocení zbylých ichthyohematologických parametrů je uvedeno v Tab. č. 5.

Posouzení procentuálního zastoupení subtypů bílých krvinek neprokázalo žádné signifikantní rozdíly mezi porovnávanými skupinami ryb.

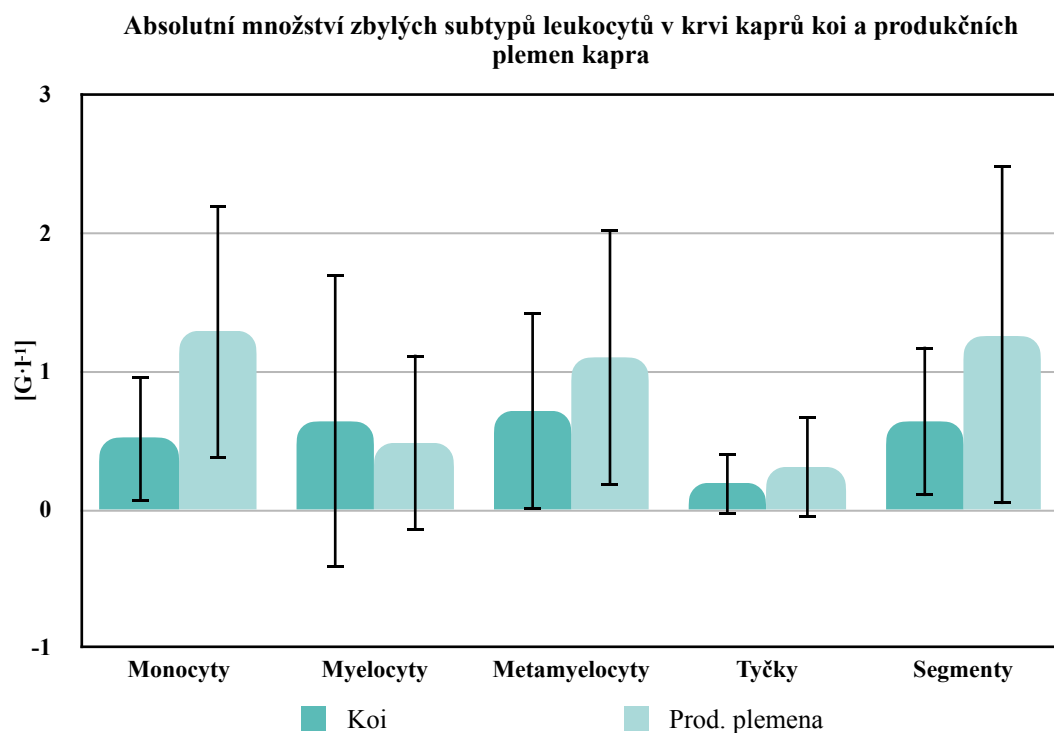
Valuaci hodnot absolutních počtů jednotlivých subtypů bílých krvinek se prokázaly statisticky významné rozdíly mezi skupinami v počtech lymfocytů a monocytů v krvi. I v tomto případě byly hodnoty vyšší ve skupině zahrnující kapry z produkčních plemen. Konkrétně skupina produkčních kaprů vykazovala v průměru $66,94 \pm 39,57 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$ lymfocytů a $1,29 \pm 0,92 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$ monocytů. Oproti tomu kapři koi měli v průměru ve své krvi $21,31 \pm 13,71 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$ lymfocytů a $0,52 \pm 0,45 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$ monocytů (viz Graf č. 3; 4).

Tabulka č. 5: Výsledné hodnoty ichthyohematologických parametrů mezi skupinou Koi a skupinou sdružující ryby produkčních plemen. Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka. Rozdíly mezi skupinami označenými odlišným abecedním znakem v horním indexu jsou statisticky významné na hladině $P < 0,05$.

	Koi	Prod. plemena
RBC [$\text{T}\cdot\text{l}^{-1}$]	$1,38^a \pm 0,20$	$1,82^b \pm 0,35$
PCV [$\text{l}\cdot\text{l}^{-1}$]	$0,30^a \pm 0,05$	$0,37^b \pm 0,04$
Hb [$\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	$74,97^a \pm 15,36$	$90,38^b \pm 7,15$
MCV [fl]	$210,19 \pm 21,53$	$209,63 \pm 36,99$
MCH [pg]	$51,19 \pm 9,21$	$51,58 \pm 10,69$
MCHC [$\text{l}\cdot\text{l}^{-1}$]	$251,41 \pm 33,35$	$243,08 \pm 21,55$
WBC [$\text{G}\cdot\text{l}^{-1}$]	$24,00^a \pm 16,16$	$71,38^b \pm 41,09$



Graf č. 3: Hodnoty absolutního množství lymfocytů v krvi kaprů koi a produkčních plemen kapra.



Graf č. 4: Hodnoty absolutního množství zbylých subtypů leukocytů v krvi kaprů koi a produkčních plemen kapra.

5. Diskuze

Ichtyohematologické ukazatele ryb, stanovení jejich hodnot a popsání jejich dynamiky je důležité z hlediska lepšího pochopení fyziologických a imunitních reakcí organismu, které mohou být jedním z kritérií pro výběr plemen vhodných pro rentabilní intenzivní chovy (Woo a kol., 1995; Martins a kol., 2010; Kocour, 2013). Tato studie je jednou z mála studií, která se podrobně zabývá rozdílnostmi ichtyohematologických parametrů mezi produkčně využívanými plemeny kapra obecného (*Cyprinus carpio*) na území České republiky. Obdobnou problematikou se zabývá práce Suljeviće a kol. (2016), kde jsou porovnávány hodnoty hematologických ukazatelů mezi kaprem a karasem obecným (*Carassius carassius*). Sami autoři uvádějí, že výsledné hodnoty této práce, stanovené ze 13 vzorků krve kapra a 15 vzorků krve karase, posloužily pouze pro stanovení přibližných hodnot hematologických a biochemických parametrů ryb kaprovitých. V rámci této diplomové práce bylo stanovení hematologických parametrů provedeno celkem u 45 jedinců kapra obecného (5 skupin po 9 jedincích) ve věku K₁.

V průběhu celého odchovu byli jedinci kapra obecného chováni v umělém prostředí akvarijních nádrží, ve kterých byly zajištěny totožné podmínky (teplota, pH, fotoperioda, chemismus vody apod.) a bylo zamezeno kontaktu s patogeny. Právě eliminace všech potencionálních faktorů, jež mohly ovlivnit výsledky této práce, byla klíčová. Neboť hodnoty hematologických faktorů jsou snadno ovlivnitelné vlivem fyzikálně-chemických hodnot vody (Vuren a Hatting, 1978; Anderson a kol., 1985; McDonald a Milligan, 1992), chorobami (Modrá a kol., 1998; Drastichová a kol., 2004) a stresem (Svobodová a kol., 1991). Právě vliv stresových situací na hematologické hodnoty popisuje příkladem Davis a kol. (2008). Dle této studie dochází při delší expozici ryb stresu k lymfocytopénii - pokles množství lymfocytů v krvi.

V rámci stanovení a porovnání hematologických hodnot mezi skupinami plemen a plemenných hybridů kapra obecného byly stanoveny statisticky významné rozdíly v hodnotách RBC, PCV, Hb, WBC, procentuálního zastoupení lymfocytů a metamyelocytů a absolutním množstvím lymfocytů v krvi. Nejvyšší hodnoty RBC, PCV a Hb byly popsány u skupin AS a ROP × TAT. Velice blízké hodnoty těmto skupinám měli jedinci ze skupiny HSM × AL. V porovnání pak nižší hodnoty těchto parametrů vykazovala skupina HSM, u které však byly určeny nejvyšší hodnoty WBC a

absolutního počtu lymfocytů. Svobodová a kol. (2008) ve své studii, jež porovnávala hematologické hodnoty adultních jedinců 8 plemen, popsala obdobné výsledky. Bohužel ne všechny skupiny ryb z této studie korespondují se skupinami ryb této diplomové práce. Svobodová a kol. (2008) popsali shodně nejvyšší hodnotu PCV u AS i ROP ($0,40 \pm 0,06 \text{ l}\cdot\text{l}^{-1}$) a naopak nejnižší u ryb ze skupiny M2 ($0,31 \pm 0,07 \text{ l}\cdot\text{l}^{-1}$). M2 je jedno z plemen využitých při vzniku HSM. Obdobně tomu bylo i u hodnot množství hemoglobinu, kdy vyšší hodnoty byly zaznamenány u AS a ROP, nižší pak u M2. Vyšší a nižší hodnoty byly i v této diplomové práci stanoveny u obdobných skupin, avšak jejich absolutní hodnota byla vždy v porovnání se studií Svobodové a kol. (2008) nižší. Uto skutečnost lze pravděpodobně vysvětlit velkým věkovým a velikostním rozdílem mezi rybami obou studií, neboť dle Andersona a kol. (1985) a Luskové (1997) dochází postupným dospíváním do adultního stádia k navyšování množství hemoglobinu v krvi. Studie Svobodové a kol. (2008) dále popsala statisticky významné rozdílnosti mezi plemeny i v hodnotách MCV a MCH. Výsledky této diplomové práce mezi těmito hodnotami neodhalily statisticky významný rozdíl. Naopak, námi zjištěné signifikantní rozdíly v hodnotách RBC a absolutního počtu lymfocytů Svobodová a kol. (2008) nepopisují. Souhrnně lze konstatovat, že vyšší hodnoty RBC, PCV a Hb vykazovala skupina Amurský sazan a plemena či meziplemenní hybridy, kteří mají Amurského sazana ve svém rodokmenu. To potvrzují nejen výsledky studie Svobodové a kol. (2008), ale i studie Saviche a Vosnyje (1979), ve které uvádějí, že kříženci jiných plemen s Amurským sazanem vykazovali vyšší koncentraci hemoglobinu v krvi. Na základě těchto výsledků se dá usuzovat, že plemena či meziplemenní hybridy s vyšší hodnotou RBC (AS, HSM $\times$ AL, ROP $\times$ TAT) by mohla vykazovat vyšší odolnost oproti kyslíkovým deficitům ve vodě. Studie Svobodové a kol. (2008) nepopsala žádnou významnou rozdílnost v hodnotě WBC či diferenciálním rozpočtu leukocytů mezi sledovanými plemeny. Důležité je zmínit námi zjištěnou hodnotu WBC, jež v průměru vykazovali jedinci plemene HSM ($109,67 \pm 32,70 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$). Tato hodnota dokonce překračovala i udávanou horní hranici normálního fyziologického množství bílých krvinek v krvi ($80 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$), a to o $29,67 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1986).

V rámci porovnání ryb šupinatých (AS, ROP $\times$ TAT) a lysých (HSM, HSM $\times$ AL) byly popsány statisticky významné rozdíly v hodnotách RBC, PCV, Hb, WBC a

v absolutním množství lymfocytů a segmentů v krvi. Vyšší hodnoty RBC, PCV a Hb byly stanoveny u ryb šupinatých. Naopak více WBCs, lymfocytů a segmentů v krvi měli jedinci ze skupiny lysých ryb. Vyšší hodnoty RBC u ryb šupinatých kupříkladu popisuje Svobodová a Smíšek (1974). Avšak studie Svobodové a kol. (2008) mezi skupinou ryb lysých a šupinatých žádné významné rozdíly v celkovém množství erytrocytů nepopisuje. Popisuje však rozdíly v hodnotách PCV a Hb (vyšší hodnoty u ryb šupinatých). Totožné výsledky popisují ve své studii i Svetina a kol. (2002). V tomto případě byla hodnota PCV u šupinatých kaprů K_3 $29,00 \pm 1,60 \%$ a hodnota Hb $67,60 \pm 2,54 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Oproti tomu hodnota PCV u lysých ryb byla $22,60 \pm 4,06 \%$ a množství hemoglobinu $51,20 \pm 3,85 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Dle Wohlfartha a kol. (1963) a Kirpichnikova (1987) jsou tyto rozdíly způsobené geny určujícími šupinatost ryb (*S* - *squamatus* a *N* - *nudus*). Dle této studie je těmito pleiotrofními geny ovlivňováno až 17 růstových, morfologických či fyziologických znaků, k nimž patří i RBC a Hb. Jejich hodnoty v porovnání s jedinci šupinatými (*SSnn*, *Ssnn*) pak postupně klesají v pořadí: kapr lysý (*ssnn*), kapr řádkový (*SSNn*, *SsNn*) a kapr hladký (*ssNn*). Rozdíly v diferenciálním rozpočtu leukocytů mezi šupinatými a lysými kapry popisuje studie Kocabatmaze a Ekingena (1987). Byť jejich studie popisuje vyšší zastoupení lymfocytů v krvi lysých ryb, a tím tak potvrzuje výsledky této diplomové práce, nelze ji považovat za příliš směrodatnou, neboť pro účely této studie byla odebrána krev pouze od jednoho jedince kapra s lysým a od jednoho jedince se šupinatým genotypem.

Porovnáním skupiny koi oproti skupině zahrnující veškeré zbylé jedince z pokusu bylo popsáno šest statisticky významných změn, a to v hodnotách RBC, PCV, Hb, WBC a v hodnotách absolutního množství lymfocytů a monocyty. Doposud žádná z publikovaných studií se konkrétně nezabývá přímým porovnáním hematologických parametrů mezi kapry koi a kapry využívanými v produkčním rybářství. Avšak stanovení referenčních hodnot hematologických parametrů pro jedince kapra koi se ve svých studiích věnovali Groff a Zinkl (1999) nebo Tripathi a kol. (2004). V případě RBC stanovily tyto studie její hodnotu $1,67 \pm 0,08 \text{ T} \cdot \text{l}^{-1}$, respektive $1,81 \pm 0,2 \text{ T} \cdot \text{l}^{-1}$. Jimi stanovené hodnoty jsou v porovnání se stanovenou hodnotou RBC v této práci vyšší a přibližují se spíše hodnotě RBC u produkčních kaprů. V rámci hematokritové hodnoty se u koi kaprů stanovená hodnota v této práci jen mírně lišila od hodnoty udávané

Tripathi a kol. (2004) - ($29,78 \pm 4,58 \%$ vs. $31,8 \pm 5,5 \%$). Nejvýraznější shoda nastala v hodnotě WBC. Tu pro koi kapry uvádí Tripathi a kol. (2004) na úrovni $24,0 \pm 5,6 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$, obdobně jako výsledky této práce ($24,00 \pm 16,16 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$). Groff a Zinkl (1999) však u koi kaprů popsali tuto hodnotu vyšší - $37,8 \pm 2,88 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$. Tato hodnota je prakticky identická s hodnotou WBC určenou ve skupině produkčních kaprů touto prací. Tripathi a kol. (2004) stanovil i hodnoty procentuálního a absolutního množství jednotlivých subtypů bílých krvinek. Jimi stanovené procentuální zastoupení lymfocytů je přibližně o 12 % nižší a absolutní množství lymfocytů je menší o $3,71 \text{ G}\cdot\text{l}^{-1}$, než hodnoty lymfocytů udávané v rámci této práce. Procentuální zastoupení monocytů udávají Groff a Zinkl (1999) v rozmezí 0,5 – 2 %. Výsledky této práce korespondují s horní hranicí tohoto referenčního rozmezí. Nesrovnalosti mezi těmito třemi studiemi lze odůvodnit faktem, že zkoumané ryby nepocházely ze stejného chovu, nebyly odchovávány v identických podmínkách a v době odebrání krevních vzorků nebyli jedinci ani stejně staří. Neboť právě věk (Speckner a kol., 1989) a fyzikálně-chemické vlastnosti vody - teplota, O₂, pH apod. (Vuren a Hatting, 1978; Hrubec a kol., 1997; Rothmann a kol., 2000) přímo ovlivňují parametry krve ryb.

Diplomová práce a její výsledky sumarizují hodnoty a popisují stanovené rozdílnosti ichthyohematologických parametrů mezi vybranými produkčními plemeny kapra obecného a okrasným koi kaprem. Dle mého mínění, bude velmi důležité obdobné studie a stanovení provádět častěji, obsáhnout větší spektrum plemen, linií či populací kapra a podrobně popsat případné změny vzniklé působením exogenních a endogenních faktorů. Jen tak bude možné komplexně popsat a pochopit ichthyohematologii jednotlivých plemen kapra a tyto informace nadále uplatnit, kupříkladu v postupech šlechtění nového plemene, či meziplenné hybridizace. Vedle hodnocení parametrů ryb chovaných v laboratorních podmínkách bude však nutné zařadit do těchto studií i ryby vystavené různým typům environmentálních stresorů (patogeny, nízká saturace vody kyslíkem, různé typy potravy atd.), aby bylo možno lépe hodnotit reakce a míru tolerance jednotlivých plemen k negativním vlivům prostředí.

6. Závěr

Cílem diplomové práce bylo stanovit a popsat případné rozdílnosti ichthyohematologických parametrů mezi některými plemeny a meziplemennými hybridy kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a koi kapry (*Cyprinus rubrofuscus*). V rámci této práce bylo provedeno stanovení celkového počtu erytrocytů, hematokritu, množství hemoglobinu, středního objemu erytrocytu, hemoglobinu erytrocytu, střední barevné koncentrace, celkového počtu leukocytů a diferenciálního rozpočtu bílých krvinek u Amurského sazana (AS), Maďarského lysce (HSM), koi kapra a kříženců Ropšinského šupinatého kapra s Tatajským kaprem (ROP x TAT) a Maďarského lysce s Amurským lyscem (HSM x AL).

Po stanovení výše uvedených hodnot a jejich statistickém vyhodnocení byly mezi plemeny popsány statisticky významné rozdíly v jednotlivých parametrech. Ve většině případů se lišila skupiny kapra koi a HSM oproti jedincům Amurského sazana a meziplemenných hybridů ROP x TAT a HSM x AL. V rámci porovnání ryb lysých a šupinatých byly zjištěny statisticky významné rozdíly v hodnotách RBC, PCV, Hb, WBC a absolutního množství segmentů. V prvních třech hodnotách vykazovaly vyšší hodnoty ryby šupinaté, ve zbylých dvou pak ryby lysé.

Výsledky sumarizované v této práci mohou sloužit k bližšímu popsání jednotlivých plemen a případně mohou sloužit pro porovnání s hodnotami zjištěnými u ryb těchto plemen v terénu při výskytu onemocnění. Do budoucna by bylo žádoucí provést tato detailní stanovení i u dalších plemen, populací a linií kapra obecného, se současným vyhodnocením jejich imunitního profilu. Jen na základě znalosti co největšího množství detailních informací bude možné vybrat do procesu novošlechtění ta nejlepší plemena.

7. Přehled použité literatury

- Abedi, Z., Khalesi, M.K., Kohestan Eskandari, S., 2012. Biochemical and Hematological Profiles of Common Carp (*Cyprinus carpio*) under Sublethal Effects of Trivalent Chromium. Iranian Journal of Toxicology: 7 (20), 282–292.
- Adamek, M., Oschilewski, A., Wohlsein, P., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Dawson, A., Gela, D., Piackova, V., Kocour, M., Adamek, J., Bergmann, S.M., Steinhagen, D., 2017. Experimental infections of different carp strains with the carp edema virus (CEV) give insights into the infection biology of the virus and indicate possible solutions to problems caused by koi sleepy disease (KSD) in carp aquaculture. Veterinary Research 48: 12.
- Adámek, Z., Dubský, K., Jarolímková, B., Just, T., Kolářová, J., Lusk, S., Navrátil, S., Nusl, P., Svobodová, Z., Šíma, A., Štípek, J., Vančura, Z., Vrána, K., 2013. Příručka pro rybářské hospodáře. Praha: Český rybářský svaz, 512 s. ISBN 978-80-905280-2-4.
- Ahmed, I., Sheikh, Z.A., 2020. Comparative study of hematological parameters of snow trout *Schizopyge plagiostomus* and *Schizopyge niger* inhabiting two different habitats, The European Zoological Journal, 87:1, 12–19.
- Ainsworth, A.J., 1992. Fish granulocytes: Morphology, distribution and function. Annual Review of Fish Diseases 2: 123–148.
- Alikunhi, K.H., 1966. Synopsis of Biological Data on Common Carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus), 1758 (Asia and the Far East). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Synop. 31(2): 39 p.
- Anderson, N.A., Laursen, J.S., Lykkeboe, G., 1985. Seasonal variations in hematocrit, red cell hemoglobin and nucleoside triphosphate concentrations in the European eel *Anguilla anguilla*. A, Comparative Physiology, 81(1), 87–92.
- Balon, E.K., 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. Guelph Ichthyology Reviewa 1: 1–48.
- Balon, E.K., 1995a. Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers. In: Billard, R., Gall, G.A.E. (Eds), The Carp. Elsevier Science B.V., Amsterdam, 3–12.
- Balon, E.K., 1995b. The common carp, *Cyprinus carpio*: its wild origin, domestication in aquaculture, and selection as colored nishikigoi. Guelph Ichthyology Reviews 3: 2–56.
- Balon, E.K., 2006. The oldest domesticated fishes, and the consequences of an epigenetic dichotomy on fish culture. Journal of Ichthyology And Aquatic Biology 11: 47–86.
- Berg, L.S., 1948. Ryby presnych vod SSSR i dopredelnyh stran. Moskva: Izdavatelstvo Akademii nauk SSSR, s. 466.
- Bílková, B., Bainová, Z., Janda, J., Zita, L., Vinkler, M., 2017. Different breeds, different blood: Cytometric analysis of whole blood cellular composition in chicken breeds. Veterinary immunology and immunopathology, 188: 71–77.
- Blecha, M., Křišťan, J., Policar, T., 2015. Způsoby výtěru a výhody hormonálního ošetření generačních ryb při výtěru candáta. Rybníkářství, 21: 6–8.
- Bogeruk, A.K., 2008. Catalogue of carp breeds (*Cyprinus carpio* L.) of the countries of central and eastern Europe = Katalog porod kapra (*Cyprinus carpio* L.) stran Central'noj i

- Vostočnoj Evropy. Moscow: Ministry of Agriculture of the Russian Federation. ISBN 978-5-9974-0063-7.
- Campbell, T.W., Murra, F., 1990. An introduction to fish hematology. *Compendium of Continuing Education in Veterinary Science* 12: 525–533.
- Dash, S. K., Singh, C., Ahuja, C. S., Singh, D., 2013. A comparative study of some hematological and serum biochemical parameters of clinically healthy Labrador and Spitz. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*, 2(1): 52–58. ISSN 2320–3595
- Davis, A.K.; Maney, D.L.; Maerz, J.C., 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional ecology*, 22(5): 760–772
- Donner, L., 1985. *Klinická hematologie*. Praha: Avicenum, zdravotnické nakladatelství, n.p., 448 s.
- Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Füll, M., Knotková, Z., Peřilová, S., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R., 2003a. *Veterinární hematologie*. Brno: Noviko, 464 s. ISBN 80-86542-02-5.
- Doubek, J., Bouda, J., Scheer, P., 2003b. Fyziologie krve a krvetvorných tkání savců. In: Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Füll, M., Knotková, Z., Peřilová, S., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R., 2003. *Veterinární hematologie*. Brno: Noviko, 27-89 s. ISBN 80-86542-02-5.
- Doumas, B.T., Bayse, D.D., Carter, R.J., Peters, T.J.R., Schaffer, R.A., 1981. Candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clinical Chemistry* 16: 42–50.
- Dabrowska, H., Własow, T., 1986. Sublethal effect of ammonia on certain biochemical and haematological indicators in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comparative Pharmacology and Toxicology*, 83(1): 179–184.
- Drastichová, J., Svobodová, Z., Lusková, V., Máchová, J., 2004. Effect of Cadmium on hematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72: 725–732.
- Dubanský, V., Svobodová, Z., 1995. *Krev ryb. Veterinářství*. Praha: Strategie Praha s.r.o., 1995, roč. 95, č. 2, 52; 54; 69-75 s. ISSN 0506 8231.
- Dubský, K., 2015. *Chov ryb v rybnících: pro stavební zaměření*. Vydání 2. Vodňany: Střední rybářská škola a Vyšší odborná škola vodního hospodářství a ekologie, s. 194 ISBN 978-80-87096-20-8.
- Dubský, K., Šrámek, V., Kouřil, J., 2003. *Obecné rybářství*. Praha: Informatorium, s. 308. ISBN 80-7333-019-9.
- Dvořák, P., Pyszko, M., Velišek, J., Dvořáková Lišková, Z., Andreji, J., 2014. *Anatomie a fyziologie ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, s. 189. ISBN 978-80-87437-80-3.
- Dzurik, R., 1996. Štandardná klinicko-biochemická diagnostika. *Osveta*, Martin, SR, pp. 183–207.
- Edsall, C.C., 1999. A blood chemistry profile for lake trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 11: 81–86.

- Ellis, A.E., 1977. The leucocytes of fish: A review. *Journal of Fish Biology* 11: 453–491.
- FAO, 2017. Fish and Aquaculture Department Statistics. Food And Agriculture Organization Of The united nations Statistics Division database.
- FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action [online]. Rome. Copyright © [cit. 06.03.2021]. Dostupné z: <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Fazio, F, 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture* 500: 237–242.
- Fazio, F., Saoca, C., Piccione, G., Kesbiç, O.S., Acar, Ü., 2016. Comparative study of some hematological and biochemical parameters of Italian and Turkish farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Turkish journal of fisheries and Aquatic sciences*, 16(3): 715–721.
- Fazio, F., Satheeshkumar, P., Senthil Kumar, D., Caterina, F., Giuseppe, P., 2012. Comparative study of hematological and blood chemistry of Indian and Italian Grey Mullet (*Mugil cephalus* Linneaus 1758). *HOAJ Biology*, 2050-0874: 1-5.
- Flajšhans, M., 2013. Domestikace a plemenitba významných hospodářských druhů ryb. In: Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Petr, J., Šlechtová, V., B., Šlechta, V., Havelka, M., Kašpar, V., Linhart, O. (Eds), *Genetika a šlechtění ryb*. 2. vydání, FROV JU, Vodňany, s. 221–248. ISBN 978-80-87437-48-3.
- Flajšhans, M., Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Linhart, O., Ošanec, J., Němec, R., Chytka, R., 2015. Amur mirror carp, a recently certified breed of common carp in the Czech Republic. In: *Book of abstracts: 3rd International Conference on Common Carp*, Vodňany, September 3–4, 2015, pp. 21–23.
- Flajšhans, M., Kocour, M., Gela, D., Piačková, V., 2004. The first results on relationships among amphimictic diploid, diploid gynogenic and triploid tench, *Tinca tinca* L. under communal testing. *Aquaculture International* 12 (1): 103–118.
- Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Šlechta, V., Linhart, O., 2008. *Genetika a šlechtění ryb*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích – skriptum, 230 s. ISBN 978-80-85887-82-2.
- Flajšhans, M., Kvasnička, P., 1997. Šlechtitelská práce u okrasných mutací lína a kapra koi. *Edice Metodik, VÚRH JU Vodňany*, č. 50, 16 s.
- Flajšhans, M., Ráb, P., Linhart, O., 2013. Polyploidie a genomové manipulace u ryb. In: Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Petr, J., Šlechtová, V., B., Šlechta, V., Havelka, M., Kašpar, V., Linhart, O. (Eds), *Genetika a šlechtění ryb*. 2. vydání, FROV JU, Vodňany, s. 151–195. ISBN 978-80-87437-48-3.
- Flajšhans, M., Rodina, M., Pšenička, M., Těšitel, J., 2011. Image cytometric measurements of diploid, triploid and tetraploid fish erythrocytes in blood smears reflect the true dimensions of live cells. *Cell Biology International* 35 (1): 67–71.
- Folmar, L.C., 1993. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: A bibliography and synopsis of selected effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 12(2): 337–375.
- Gatlin, D.M. III, Wilson, R.P., 1986. Charaterisation of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture* 52: 191–198.

- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízení reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Edice Metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 50, 43 s. ISBN 978-80-85887-99-0.
- Gela, D., Flajšhans, M., Kocour, M., Rodina, M., Kašpar, V., Linhart, O., Ošanec, J., Němec, R., Chytka, V., 2014. Podklady pro uznávací řízení plemene Amurský lysec, Fakulta rybářství a ochrany vod JU a Rybníkářství Pohořelice a.s., 32 s.
- Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A., 2009. Atlas of Fish Histology. Enfield, NH, USA: Science Publishers, pp. 215. ISBN 978-1-57808-544-6.
- Groff, J.M., Zinkl, J.G., 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. Common carp and goldfish. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 2(3): 741–776.
- Hanel, L., Andreska, J., 2022. Ryby evropských vod v ilustracích Květoslava Híska, Praha: Aventinum, s. 352. ISBN 978-80-7442-136-5.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005. Ryby a mihule České republiky: rošíření a ochrana = Fishes and lampreys of the Czech Republic: distribution and conservation. Vlašim: Český svaz ochránců přírody Vlašim, 447 s. ISBN 80-86327-49-3.
- Hartman, P., Regenda, J., 2016. Praktika v rybníkářství. 2. vydání. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 375 s. ISBN 978-80-7514-042-5.
- Harvey, J.W., 2001. Atlas of veterinary hematology. Blood and bone marrow of domestic animals. W.B. Saunders, Philadelphia, USA, 326 pp. ISBN 978-0-7216-6334-0.
- Hawkins, R.I., Mawdesley-Thomas, L., 2006. Fish haematology-A bibliography. Journal of Fish Biology, 4(2): 193–232.
- Hedayati, A., Niazie, E.H.N., 2015. Hematological changes of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in response to Diazinon pesticide. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 13: 1–5.
- Hesser, E. F., 1960. Methods for routine fish hematology. The Progressive Fish-Culturist, 22 (4): 164–171.
- Hilble, R., Langfeldt-Feldmann, G., 2001. Koi – fantastically colored pond fish – Multico Oficyna Wydawnicza Warszawa, 64 pp.
- Hrubec, T.C., Robertson, J.L., Smith, S.A., 1997. Effect of temperature on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *Morone saxatilis*). American Journal of Veterinary Research, 58(2): 126–130.
- Hrubec, T.C., Smith, S.A., 2006. Hematology of Fish. In: Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (Eds), Shalm's Veterinary hematology. Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA, 1120-1125.
- Hyanek, J., 1980. Klinické a biochemické aspekty vrozených metabolických poruch. Avicenum, Praha, 126 s.
- Imagawa, T., Hashimoto, Y., Kitagawa, H., Kon, Y., Kudo, N., Sugimura, M., 1989. Morphology of Blood Cells in Carp (*Cyprinus carpio* L.). Japan, Hokkaido: The Japanese Journal of Veterinary Science, 51(6): 1163–1172.

- Jahanbakhshi, A., Hedayati, A., Harsij, M., Barkhodar, M., 2013. Hematological and biochemical responses of common carp *Cyprinus carpio* to direct infusion of crude oil. *Comparative Clinical Pathology*, 23(3): 799–803.
- Karimi, S.H., Kochinian, P., Salati, A.P., 2013. The effect of sexuality on some haematological parameters of the yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* in Persian Gulf. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(1): 65–68.
- Karnai, L., Szűcs, I., 2018. Outlooks and perspectives of the common carp production. *Roczniki (Annals)*, 2018(1230-2019-3607).
- Kašparů, M., Jakobartl, J., 2015. Zkušenosti s pilotním recirkulačním akvakulturním systémem ve firmě agrico S.R.O. In: Velíšek, J., Kouba, A., Dvořáková, Z. (Eds.), *Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství*, Vodňany, 1. - 2. 9. 2015. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 21-29 s. ISBN 978-80-7514-028-9.
- Kirpichnikov, V.S., 1981. Genetic bases of fish selection. Springer-Verlag, Berlin, 410 pp.
- Kirpichnikov, V. S., 1987: Genetics and selection of fishes. Izdatelstvo Nauka, Leningrad, 520 pp. (in Russian).
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1987. Comparative studies on leucocytes of some freshwater fish species. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 3(1): 71–81.
- Kocour, M., 2013. Šlechtitelské programy v akvakultuře. In: Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Petr, J., Šlechtová, V., B., Šlechta, V., Havelka, M., Kašpar, V., Linhart, O. (Eds), *Genetika a šlechtění ryb*. 2. vydání, FROV JU, Vodňany, s. 249–281. ISBN 978-80-87437-48-3.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický. Edice Metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 88, 30 s. ISBN 978-80-85887-88-4.
- Kolářová, J., Velíšek, J., 2012. Stanovení a vyhodnocení biochemického profilu krve ryb. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Fakulta rybářství a ochrany vod. Edice Metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 135, 54 s. ISBN 978-80-87437-58-2.
- Kori-Siakpere, O., Ubogu, E.O., 2008. Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclinus sp.* (*Osteichthyes: Clariidae*). *African Journal of Biotechnology*, 7(12).
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Berlin: Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, 646 pp. ISBN 978-2-8399-0298-4.
- Kouřil, J., 2015. Úvod do intenzivního chovu ryb včetně přehledu RAS v České republice. In: Velíšek, J., Kouba, A., Dvořáková, Z. (Eds.), *Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství*, Vodňany, 1. - 2. 9. 2015. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 10-20 s. ISBN 978-80-7514-028-9.
- LeBreton, G.T.O., Beamish, F.W.H., McKinley, R.S., 2004. Sturgeons and Paddlefish of North America. Fish & Fisheries Series. Kluwer Academic Publisher, the Netherlands, 323 pp.
- Linhart, O., Kudo, S., Billard, R., Šlechta, V., Mikodina, E.V., 1995. Morphology, composition and fertilization of carp eggs: a review. In: Billard, R., Gall, G.A.E. (Eds), *The Carp*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 75–93.

- Lucký, Z., 1962. Návod k diagnostice nemocí ryb. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, n.p., 72 s.
- Lusková, V., 1997. Annual cycles and normal values of hematological parameters in fishes. Brno: Institute of Landscape Ecology, Academy of Sciences of the Czech Republic. Acta Sc. Nat. Brno, 31(5), pp. 70. ISBN 80-238-2664-6.
- Lutnicka, H., Bojarski, B., Witeska, M., Chmurska-Gasowska, M., Trybus, W., Trybus, E., Kopacz-Bednarska, A., Lis, M., 2018. Effects of MCPA herbicide on hematological parameters and ultrastructure of hematopoietic tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Poland, Kraków: Folia Biologica, 2018, 66(1): 1–11. ISSN 1734-9168.
- Mahoney, J.B., McNulty, J.K., 1992. Disease-associated blood changes and normal seasonal hematological variation in winter flounder in the Hudson-Raritan Estuary. Transaction of the American Fisheries Society 12: 261–268.
- Marshall, W., 1995. Clinical chemistry. Mosby, London, UK, 126 pp.
- Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C., Heinsbroek, L.T., Schneider, O., Blancheton, J.P., Verreth, J.A.J., 2010. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. Aquacultural Engineering, 43: 83–93.
- Masopust, J., 1998. Klinická biochemie: požadování a hodnocení biochemických vyšetření, 1. část. Praha: Karolinum, 429 s. ISBN 80-7184-648-1.
- Máchová, J., Svobodová, Z., Valentová, O., Kocour Kroupová, H., Zusková, E., Modrá, H., Velíšek, J., Stará, A., Bláhová, J., Dobšíková, R., 2014. Faktory a látky způsobující akutní otravy vodních organismů. In: Velíšek, J., Svobodová, Z., Bláhová, J., Máchová, J., Stará, A., Dobšíková, R., Šírká, Z., Modrá, H., Valentová, O., Randák, T., Štěpánová, S., Maršálek, P., Kocour Kroupová, H., Grabic, R., Zusková, E., Bartošková, M., Stancová, V., 2014. Vodní toxikologie pro rybáře. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 149–356 s. ISBN 978-80-87437-89-6.
- McDonald, D.G., Milligan, C.L., 1992. Chemical properties of the blood. In: Hoar, W.S., Randall, D.H., Farrell, A.P. (Eds), Fish Physiology. Academic Press, New York, USA, pp. 56–135.
- Modrá, H., 1999. Hodnocení vlivu různých neinfekčních faktorů na bílý krevní obraz ryb. Disertační práce, VFU Brno, 57 s.
- Modrá, H., Svobodová, Z., Kolářová, J., 1998. Comparison of differential leukocyte counts in fish of economic and indicator importance. Acta Veterinaria Brno 67, 215–226 s.
- Nakajima, T., Hudson, M.J., Uchiyama, J., Makibayashi, K., Zhang, J., 2019. Common carp aquaculture in Neolithic China dates back 8,000 years. Nat Ecol Evol 3, 1415–1418.
- Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, 155 p.
- Neff, J.M., 1985. Use of biochemical measurement to detect pollutant-mediated damage to fish. ASTM Special Technical Publication, West Conshohocken, USA. No. 854: 155–183.
- Novotný, E., Böhm, R., Geissel, V., Holman, J., 1966. Veterinární histologie. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 637 s.
- Olsen, Y., 2011. Resources for fish feed in future mariculture. Aquaculture Environment Interactions, 1(3): 187–200.

- Palíková, M., Mareš, J., Jirásek, J., 1999. Characteristics of leucocytes and thrombocytes of selected sturgeon species from intensive breeding. *Acta Veterinaria Brno* 68(4): 259–264.
- Papežíková, I., Palíková, M., Syrová, E., Minářová, H., Hyršl, P., Mareš, J., 2018. Hematologické, biochemické a imunitní parametry u dvou geneticky odlišných linií pstruha duhového. In: Mareš, J., Grmela, J. (Eds), „Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace“ - sborník příspěvků. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, s. 32–34. ISBN 978-80-7509-590-9
- Pecka, M., 1995. Přehled laboratorní hematologie I. Krvetvorba. Červená krevní řada. Praha: Galén, 78 s.
- Pečená, M., Svobodová, Z., 1989. Změny v diferenciálním rozpočtu leukocytů u kapra po akutní intoxikaci pesticidy na bázi triazinů a diazinů. Odd. 46. In: Pravda, D. (ed.), 1989. Druhá celostátní ichtyohematologická konference ČSVTS se zahraniční účastí, sborník přednášek a dokladů s anglicko-českými souhrny: Litomyšl, 28. - 29. 11. 1989. Praha: ČSVTS. 350 s.
- Pecha, O., 1988. Zkušenosti s chovem japonského kapra nishiki-koi. Yiva, Academia Praha, 1: 27–28.
- Peter, R.E., Yu, K.L., 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes. Basic and applied aspects. Review in *Fish Biology and Fisheries*, 7: 173–197.
- Piačková, V., Flajšhans, M., Pokorová, D., Reschová, S., Gela, D., Čížek, A., Veselý, T., 2013. Sensitivity of common carp, *Cyprinus carpio* L., strains and crossbreeds reared in the Czech Republic to infection by Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3; KhV). *Journal of Fish Diseases* 36: 75–80.
- Piačková, V., Palíková, M., Zusková, E., Flajšhans, M., 2014. Stanovení diferenciálního počtu leukocytů ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Edice metodik, FROV JU, č. 160, 65 s. ISBN 978-80-7514-024-1.
- Piačková, V., Pokorová, D., Veselý, T., Čížek, A., Zusková, E., Pospíchal, A., Reschová, S., 2015. Prevence vzniku koi herpesvirózy v chovech kapra a koi kapra. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, (161), 36 s. ISBN 978-80-7514-030-2.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.-C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. Polyploid Fish and Shellfish: Production, Biology and Applications to Aquaculture for Performance Improvement and Genetic Containment. *Aquaculture*, 293: 125–156.
- Podhorec, P., Kouřil, J., 2009. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. *Veterinární Medicína*, 54: 97–110.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 1998. Pstruhařství. 2., přeprac. vyd. Praha: Informatorium, 242 s. ISBN 80-86073-24-6.
- Pokorný, J., Flajšhans, M., Haartvich, P., Kvasnička, P., Pružina, I., 1995. Atlas kaprů chovaných v České republice. Victoria Publishing, Praha, 69 s. ISBN 80-7187-005-6.
- Polícar, T., Blecha, M., Křišťan, J., Svačina, P., 2015. Metody a postupy využívané v intenzivní akvakultuře. In: Velišek, J., Kouba, A., Dvořáková, Z. (Eds.), Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství, Vodňany, 1. - 2. 9. 2015. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 62-77 s. ISBN 978-80-7514-028-9.

- Polícar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S.M.H., Kouřil, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 89, 51 s. ISBN 978-80-85887-89-1.
- Powers, D.A., 1980. Molecular ecology of teleost fish hemoglobins: strategies for adapting to changing environments. *American Zoology* 20: 139–162.
- Pravda, D., Paláčková, J., 1988. Vybrané hematologicko-biochemické parametry pstruha duhového (*Salmo gairdneri* Richardson) v průmyslových odchovech ryb. In: Sborník konference Chov lososovitých ryb. Mariánské lázně, 264–267.
- Pravda, D., Svobodová, Z., 2003. Hematologie ryb. In: Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Füll, M., Knotková, Z., Pejřilová, S., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R., 2003. Veterinární hematologie. Brno: Noviko, 382–405 s. ISBN 80-86542-02-5.
- Prchal, M., Gela, D., Flajšhans, M., Piačková, V., Kocour Kroupová, H., Kocour, M., 2022. Využití amurského lysce pro zefektivnění produkce kapra v rybníční akvakultuře ČR. Vodňany: Jihočeská univerzita, Fakulta rybářství a ochrany vod. Edice metodik, FROV JU, č. 189, 62 s. ISBN 978-80-7514-137-8.
- Rey Vázquez, G., Guerrero, G.A., 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (*Teleostei, Perciformes*). *Tissue and Cell* 39: 151–160.
- Rey Vázquez, G., Lo Nostro, F., 2014. Changes in hematological Parameters of *Cichlasoma dimerus* (*Teleostei, Perciformes*) Exposed to Sublethal Concentrations of 4-tert-Octylphenol. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 66: 463–469.
- Rieger, A.M., Bareda, D.R., 2011. Antimicrobial mechanisms of fish leucocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 35(12): 1238–1245.
- Rimstad, E., Dale, O.B., Dannevig, B.H., Falk, K., 2011. Infectious Salmon Anaemia. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd edn. CAB International, Preston, UK, pp. 143–165.
- Rolbiecki, L., 2004. Distribution of *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) (Digenea; Diplostomidae) metacercariae in cyprinids of the Vistula lagoon. *Archives of Polish Fisheries* 12: 93–98.
- Rothmann, C., Levinshal, T., Timan, B., Avtalion, R.R., Malik, Z., 2000. Spectral imaging of red blood cells in experimental anemia of *Cyprinus carpio*. *Comp Biochem Physiol A*, 125: 75–83.
- Rougeot, C., Mélard, C., 2008. Genetic improvement of growth. In: Rougeot, C., Toner, D. (Eds), *Farming of Eurasian Perch Special publication BIM*, Dublin, Ireland, 24: 42–51.
- Rybářské sdružení České republiky, 2022. Produkce a trh ryb. Rybářské sdružení České republiky | Sdružení [online]. Copyright © 2018, Rybářské sdružení ČR [cit. 09.02.2023]. Dostupné z: <http://www.cz-ryby.cz/produkce-ryb/produkce-a-trh-ryb>
- Řehulka, J., 1996. Blood parameters in common carp with spontaneous spring viremia (SVC). *Aquaculture International* 4: 175–182.
- Sari, R.P., Windarti, W., Riauaty, M., 2020. Blood Description of Patin Fish (*Pangasius hypophthalmus*) Maintained by Photoperiod Manipulation and Turmeric-enriched Feeding. *Berkala Perikanan Terubuk*, 48(3): 501–507. ISSN 0126-4265.

- Savich, M. V.; Vosnyj, N. E., 1979: Some blood characteristics of carp x wild carp hybrids produced by different crossings. Rybn. Khoz. (Kiev) 29: 40–46. (in Russian).
- Scott, W.B., 1973. Freshwater fishes of Canada. Fish. Res. Board Can. Bull., 184, pp. 1–966.
- Setiyowati, I., Suprpto, H., Mahasri, G., 2019. The Effects of Mercury Chloride (HgCl₂) on the Changes in Hematology and Blood Sugar Level in Carps (*Cyprinus carpio*). In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 2019 (236): 1–11.
- Schalm, O.W., Jain, N.C., Carroll, E.J., 1975. Veterinary hematology, 3th edition. Lea &Febiger, Philadelphia, USA, 807 pp.
- Spangenberg, R., Schreckenbach, K., Meese, J., 1989. Main values for defining the state of health and productiveness of carp fingerlings (C1-2). Odd. 2. In: Pravda, D. (ed.), 1989. Druhá celostátní ichtyohematologická konference ČSVTS se zahraniční účastí, sborník přednášek a dokladů s anglicko-českými souhrny: Litomyšl, 28. - 29. 11. 1989. Praha: ČSVTS. 350 s.
- Speckner, W., Schindler, J.F., Albers, C., 1989. Age-dependent changes in volume and haemoglobin content of erythrocytes in the carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of experimental biology, 141(1): 133–149.
- Stosik, M., Tokarz-Deptula, B., Deptula, J., Deptula, W., 2020. Immune Functions of Erythrocytes in Osteichthyes. Frontiers in Immunology 11: 1914.
- Suljević, D., Aljagić, A., Mitrašinović-Brulić, M., Fočak, M., Islamagić, E., 2016. Comparative physiological assessment of common carp (*Cyprinus carpio*) and crucian carp (*Carassius carassius*) based on electrolyte and hematological analysis. Macedonian Journal of Animal Science, 6(2): 95–100. ISSN 1857–6907.
- Suzuki, Y., 1986. Cytochemistry of basophil granulocyte in carp and puffer. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries 52(11): 1895–1899.
- Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M., Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. Acta Vet. Hung. 50, 459–467.
- Svoboda, M., Lusková, V., Drastichová, J., Žlábek, V., 2001. The Effect of Diazinon on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L). Acta Vet. Brno 2001, 70, 457–465.
- Svobodová, Z., Smíšek, J., 1974. Red blood parameters values in carp (*Cyprinus carpio* L.) with different scaliness phenotype and genotype. Bull. VÚRH Vodňany 10, 9–15. (in Czech; English abstract).
- Svobodová, Z., Gelnarová, J., Justýn, J., Krupauer, V., Máchová, J., Simanov, L., Valentová, V., Vykusová, B., Wohlgemuth, E., 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN, Praha, 231 s.
- Svobodová, Z., Lloyd, T., Máchová, J., Vykusová, B., 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper 54, FAO, Rome, Italy, 59 p.
- Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. 4., přeprac. vyd. Praha: Informatorium, 264 s. ISBN 978-80-7333-051-4.
- Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., 1978. The values of some haematological indices in parent tench (*Tinca tinca*). Živočišná výroba 23: 825–833.

- Svobodová, Z., Kroupová, H., Modrá, H., Flajšhans, M., Randák, T., Savina, L. V., Gela, D., 2008. Haematological profile of common carp spawners of various breeds. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(1): 55–59.
- Svobodová, Z., Máchová, J., 1985. Příčiny, diagnostika a prevence otrav ryb. Pardubice: Ústav veterinární osvěty. Veterinární péče v chovech ryb, 136 s.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Modrá, H., 2012. Metody hematologického vyšetřování ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Edice metodik, č. 122, 38 s. ISBN 978-80-87437-62-9.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Paláčková, J., 1986. Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický. Edice Metodik, č. 22, 36 s.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Paláčková, J., 1991. Unified methods of haematological examination of fish. Vodňany: Research Institute of fish culture and hydrobiology, pp. 31.
- Svobodová, Z., Sudová, E., Nepejchalová, L., Červinka, S., Vykusová, B., Modrá, H., Kolářová, J., 2006. Effects of oxytetracycline containing feed on pond ecosystem and health of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 75(4): 571–577.
- Svobodová, Z., Vykusová, B., Máchová, J., Müller, R., Lloyd, R., 1994. Sublethal chronic effects of pollutants on freshwater fish. R. Muller ir R. Lloyd. Lugano, 39: pp. 52.
- Thomas, P.T., Woo, P.T.K., 1988. Cryptobia salmositica: in vitro and in vivo study on the mechanism of anaemia in infected rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 11: 425–431.
- Thuvander, A., Norrgren, L., Fossum, C., 1987. Phagocytic cells in blood from rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), characterized by flow cytometry and elektron microscopy. *Journal of Fish Biology* 31: 197–208.
- Tripathi, N.K., Latimer, K.S., Burnley, V.V., 2004. Hematologic reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(2): 74–83.
- Vali, S., Mohammadi, G., Tvabe, K.R., Moghadas, F., Naserabad, S.S., 2020. The effects of silver nanoparticles (Ag-NPs) sublethal concentrations on common carp (*Cyprinus carpio*): Bioaccumulation, hematology, serum biochemistry and immunology, antioxidant enzymes, and skin mucosal responses. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2020, 194 (110353), 1–12.
- Van Rijn, J., 2013. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 53: 49-56.
- Velíšek, J., Stará, A., Svobodová, Z., 2011. The effects of pyrethroid and triazine pesticides on fish physiology. In Stoytcheva, M. (Ed.). *Pesticides in the Modern World-pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment*. InTech Open Acces Publisher, Rijeka, Croatia, pp. 377–402.
- Velíšek, J., Svobodová, Z., Bláhová, J., Máchová, J., Stará, A., Dobšíková, R., Šíroká, Z., Modrá, H., Valentová, O., Randák, T., Štěpánová, S., Maršálek, P., Kocour Kroupová, H., Grabic, R., Zusková, E., Bartošková, M., Stancová, V., 2014. Vodní toxikologie pro rybáře. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 600 s. ISBN 978-80-87437-89-6.

- Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., Novotný, L., Bláhová, J., Sudová, E., Malý, V., 2008. Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinární Medicína* 53 (6): 324–332.
- Volf, F., a Havelka, J., 1958. *Rybářská zdravotvoda*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 206 s.
- Vuren, J.H.J., Hattingh, J., 1978. A seasonal study of the haematology of wild freshwater fish. Great Britain: The Fisheries Society of the British Isles. *Journal of Fish Biology*, 13(3): 305–313.
- Walmsley, R.N., Watkinson, L.R., Koay, E.S.C., 1992. Cases in chemical pathology - a diagnostic approach. *World Scientific* 14: 125–136.
- Watanuki, N., Takahashi, A., Yasuda, A., Sakai, M., 1999. Kidney leucocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, are activated by intraperitoneal injection of b-endorphin. *Veterinary immunology and immunopathology*, 71(2): 89–97
- Willmer, P., Stone, G., Johnston, I.A., 2000. *Environmental physiology of animals*. Blackwell Science, London. 644 pp. ISBN 0-632-03517-X.
- Witeska, M., 2005. Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic journal of ichthyology*, 1(1): 35–41.
- Witeska, M., Kondera, E., Lipionoga, J., Jastrzebska, A., 2010a. Changes in oxygen consumption rate and red blood parameters in common carp *Cyprinus carpio* L. after acute copper and cadmium exposures. *Fresenius Environmental Bulletin*, 19(1): 115–122.
- Witeska, M., Kondera, E., Szymanska, M., Ostrysz, M., 2010b. Hematological Changes in Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) after Short-Term Lead (Pb) Exposure. *Polish Journal of Environmental Studies* 19(4): 825–831.
- Witeska, M., Kościuk, B., 2003. Changes in common carp blood after short-term zinc exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 10: 284–286.
- Wohlfarth, G.W., 1984. Common carp. In: Mason, I. L. (Ed), *Evolution of domesticated animals*, London: Longman, pp. 375–380.
- Wohlfarth, G.W., Lahman, M., Moav, R., 1963. Genetic improvement of carp. IV. Leather and line carp in fish ponds of Israel. *Bamidgeh*, 15(1): 3–8.
- Wohlfarth, G.W., Rothbard, S., 1991. Preliminary investigations on color inheritance in Japanese ornamental carp (nishiki-goi). *The Israeli Journal of Agriculture – Bamidgeh* 43: 62–68.
- Woo, P.T.K., Bower, S.M., Bureson, E.M., Choudhury, A., Cone, D.K., Dawe, D.L., Disk, T.A., Dickerson, H.W., Dyková, I., Ko, R.C., Lester, R.J.G., Levy, M.G., Lom, J., Molnár, K., Nickol, B.B., Noga, E.J., Paperna, I., Poynton, S.L., Roubal, F.R., Thomas, P.T., van Muiswinkel, W.H., 1995. *Fish Diseases and Disorders*. 1. University of Guelph, Canada: CAB INTERNATIONAL, pp. 808. ISBN 085198 823 7.
- Zhou, X., Li, M., Abbas, K., Wang, W., 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 435–441.

8. Seznam tabulek

Tabulka č. 1	Výsledné hodnoty ichtyohematologických parametrů všech sledovaných skupin ryb.	Str.: 53
Tabulka č. 2	Výsledné hodnoty procentuálního zastoupení typů leukocytů všech sledovaných skupin ryb.	Str.: 53
Tabulka č. 3	Výsledné hodnoty celkového zastoupení typů leukocytů všech sledovaných skupin ryb.	Str.: 53
Tabulka č. 4	Výsledné hodnoty ichtyohematologických parametrů mezi rybami šupinatými a lysými.	Str.: 54
Tabulka č. 5	Výsledné hodnoty ichtyohematologických parametrů mezi skupinou Koi a skupinou sdružující ryby produkčních plemen.	Str.: 56

9. Seznam grafů

Graf č. 1	Hodnoty absolutního množství lymfocytů v krvi ryb šupinatých a lysých.	Str.: 55
Graf č. 2	Hodnoty absolutního množství zbylých subtypů leukocytů v krvi ryb šupinatých a lysých.	Str.: 55
Graf č. 3	Hodnoty absolutní množství lymfocytů v krvi kaprů koi a produkčních plemen kapra.	Str.: 57
Graf č. 4	Hodnoty absolutního množství zbylých subtypů leukocytů v krvi kaprů koi a produkčních plemen kapra.	Str.: 57

10. Seznam obrázků

Obrázek č. 1	Schéma vzniku plemene Amurský lysec.	Str.: 17
Obrázek č. 2	Erytrocyty kapra obecného.	Str.: 25
Obrázek č. 3	Trombocyty kapra obecného.	Str.: 29
Obrázek č. 4	Lymfocyty kapra obecného.	Str.: 33
Obrázek č. 5	Monocyty kapra obecného.	Str.: 34
Obrázek č. 6	Neutrofilní myelocyt a neutrofilní „segment“ kapra obecného.	Str.: 35
Obrázek č. 7	Neutrofilní myelocyt a neutrofilní metamyelocyt kapra obecného.	Str.: 38
Obrázek č. 8	Neutrofilní „tyčka“ a neutrofilní „segment“ kapra obecného.	Str.: 38
Obrázek č. 9	Odběr krve ryb s využitím metody kardiopunkce za pomoci heparinizované kapiláry.	Str.: 41
Obrázek č. 10	Odběr krve ryb s využitím metody punkce cév ocasních za pomoci heparinizované injekční jehly.	Str.: 42
Obrázek č. 11	Grafické znázornění vyhotovení krevního nátěru.	Str.: 50
Obrázek č. 12	Znázornění systému zkoumání krevního nátěru.	Str.: 50

11. Seznam použitých zkratek

AL	Amurský lysec
AS	Amurský sazan
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů
fl	Femtolitr ($1 \cdot 10^{-15}$ l)
FROV	Fakulta rybářství a ochrany vod
Hb	Množství hemoglobinu
HSM	Syntetická linie maďarských lisců (Hungarian Synthetic Mirror)
IU	Mezinárodní jednotka (International Unit)
M 72	Severský lysec
MCH	Hemoglobin erytrocytu (Mean Cell Hemoglobin)
MCHC	Střední barevná koncentrace (Mean Cell Hemoglobin Concentration)
MCV	Střední objem erytrocytu (Mean Cell Volume)
Lk	Leukokritová hodnota
PCV	Hematokritová hodnota (Packed Cell Volume)
pg	Pikogram ($1 \cdot 10^{-12}$ g)
PHOS	Anorganický fosfát
RBC	Počet erytrocytů
RBCs	Erytrocyty (Red Blood Cells; červené krvinky)
ROP	Ropšinský kapr šupinatý
TAT	Tatajský kapr šupinatý
TL	Celkové lipidy (Total Lipid)
TP	Celkové bílkoviny (Total Protein)
VÚRH	Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
WBC	Počet leukocytů
WBCs	Leukocyty (White Blood Cells; bílé krvinky)

12. Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo popsat vliv plemenné příslušnosti na hodnoty hematologických parametrů u vybraných plemen a meziplemenných kříženců kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a okrasné variety – kapra koi (*Cyprinus rubrofuscus*).

Do experimentu bylo zahrnuto celkem 5 skupin ryb po 9 jedincích. Celkem tedy 45 kusů kapra obecného ve věku jednoho roku. Každá ze skupin představovala jedno ze sledovaných plemen či meziplemenných hybridů. V rámci této diplomové práce byly hematologické parametry stanoveny u jedinců plemene Amurský sazan, syntetická linie maďarských lysců (HSM) a hybridů plemen Ropšinský x Tatajský kapr či Amurský lysec x HSM. Pátou skupinou byli jedinci kapra koi. Odchov ryb probíhal v prostředí akvárií, a poté v laminátových nádržích s recirkulací, kde byly po celou dobu odchovu zajištěny optimální a totožné fyzikálně-chemické parametry vody. Z odebraných vzorků krve bylo provedeno stanovení hodnot RBC, PCV, Hb, MCV, MCH, MCHC WBC, Lk a diferenciálního rozpočtu leukocytů.

Na základě stanovených hodnot a výsledků statistického porovnání je patrné, že mezi komparovanými skupinami ryb jsou statisticky významné rozdílnosti v hodnotách RBC, PCV, Hb a WBC. Výhradně se odlišovali jedinci ze skupiny koi a HSM (nižší hodnoty RBC, PCV i Hb) oproti jedincům ze skupin Amurského sazana a meziplemenných hybridů ROP x TAT a HSM x AL. Naopak nejvyšší hodnota WBC byla stanovena u ryb ze skupiny HSM. V rámci leukogramu byly zjištěny významné rozdíly v procentuálním zastoupení lymfocytů a metamyelocytů a v rámci absolutních hodnot jednotlivých typů bílých krvinek byla významná rozdílnost stanovena pouze u lymfocytů. I přestože byly ryby odchovávány v průběhu celého experimentu v obdobných podmínkách, nelze úplně vyloučit skutečnost, že určitou měrou mohlo dojít působením, byť velice nepatrných změn a faktorů (rozdíl v tělesné aktivitě nebo proudění vody v chovné nádrži, stres způsobený přítomností dalších jedinců apod.) k sekundárnímu ovlivnění některých ichtyohematologických parametrů.

Klíčová slova: kapr obecný, hematologie ryb, hematologické parametry, plemena kapra, leukocyty, diferenciální rozpočet leukocytů

Abstract

The aim of this thesis was to describe the effect of breed affiliation on the values of haematological parameters in selected breeds and interbreeds of common carp (*Cyprinus carpio*) and ornamental variety - koi carp (*Cyprinus rubrofuscus*).

A total of 5 groups of fish were included in the experiment and 9 individuals were included in each group. Thus, a total of 45 common carp at one year of age. Each group represented one of the breeds or inter-breed hybrids studied. In the framework of this thesis, haematological parameters were determined in individuals of the AS breed, the synthetic line of Hungarian Mirror Carp (HSM) and hybrids of the breeds Ropšinský x Tatajský carp or Amur mirror carp x HSM. The fifth group was koi carp. The fish were reared in aquaria, where optimal and identical physico-chemical water parameters were ensured throughout the rearing period. The RBC, PCV, Hb, MCV, MCH, MCHC WBC, Lk and differential leukocyte count were determined from the blood samples collected.

Based on the determined values and the results of statistical comparison, it is evident that there are statistically significant differences in RBC, PCV, Hb and WBC values between the compared groups. Individuals from the koi and HSM groups (lower values of RBC, PCV and Hb) differed exclusively from individuals from the AS and interbreed hybrids ROP x TAT and HSM x AL groups. On the other hand, the highest WBC value was determined in fish from the HSM group. Within the leukogram, significant differences were found in the percentages of lymphocytes and metamyelocytes, and only lymphocytes showed significant differences in the absolute values of individual white blood cell types. Even though the fish were reared under similar conditions throughout the experiment, it cannot be completely excluded that some secondary effects on some hematological parameters may have been caused by even very subtle changes and factors (difference in physical activity or water flow in the rearing tank, stress caused by the presence of other individuals, etc.).

Keywords: common carp, fish hematology, hematological parameters, carp breeds, leukocytes, differential leukocyte count