



EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
INVESTOVÁNÍ DO UDRŽITELNÉHO
RYBOLOVU



**FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A
OCHRANY VOD**

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

TECHNICKÁ ZPRÁVA PILOTNÍHO PROJEKTU

Název pilotního projektu:

OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE ZARUČJÍCÍ KVALITNÍ A VYROVNANOU PRODUKCI NÁSADOVÉHO MATERIÁLU ŠTIKY OBECNÉ

Registrační číslo pilotního projektu: CZ.1.25/3.4.00/11.00397



EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
INVESTOVÁNÍ DO UDRŽITELNÉHO
RYBOLOVU



**FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A
OCHRANY VOD**

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

Příjemce dotace:

Název nebo obchodní jméno: Rybářství Nové Hrady s.r.o.

Adresa: Štiptoň 78, 374 01 Trhové Sviny

IČ: 15789799

Registrační číslo pp: CZ.1.25/3.4.00/11.00397

Název pilotního projektu: **OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE ZARUČUJÍCÍ KVALITNÍ A
VYROVNANOU PRODUKCI NÁSADOVÉHO
MATERIÁLU ŠTIKY OBECNÉ**

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna příjemce dotace zastupovat:

Lubomír Zvonař

Vědecký subjekt:

Název nebo obchodní jméno: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství
a ochrany vod

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 30. 11. 2012

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna vědecký subjekt zastupovat:

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.

Zpracovatel technické zprávy pilotního projektu:

Název nebo obchodní jméno: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství
a ochrany vod

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 30. 11. 2012

Jména a příjmení osob, které zpracovaly technickou zprávu:

doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna zpracovatele technické zprávy zastupovat:

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.



EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
INVESTOVÁNÍ DO UDRŽITELNÉHO
RYBOLOVU



**FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A
OCHRANY VOD**

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Souhlas s publikací technické zprávy:

Souhlasím se zveřejněním této technické zprávy pilotního projektu v rámci opatření 3.4. Pilotní projekty z Operačního programu Rybářství 2007 – 2013 na internetových stránkách Ministerstva zemědělství a s využíváním výsledků této technické zprávy všemi subjekty z odvětví rybářství.

Podpis osoby oprávněné zastupovat:

1. Příjemce dotace:

Lubomír Zvonař

2. Partnera projektu (vědecký subjekt):

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.

3. Zpracovatele technické zprávy:

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.



Obsah:

1. CÍL.....	6
1.1. Co je cílem pilotního projektu.....	6
1.2. V čem tkví inovativnost testované technologie.....	6
1.3. Proč je nutná inovace, která je předmětem testování.....	6
2. ÚVOD.....	7
3. MATERIÁL A METODIKA.....	10
3.1. Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s optimalizací umělého oplodnění vytřených jiker.....	10
3.1.1. Generační ryby.....	10
3.1.2. Značení ryb a hormonální injekce.....	10
3.1.3. Kontrola generačních ryb po hormonální injekci.....	10
3.1.4. Vlastní umělý výtěr.....	10
3.1.5. Hodnocení reprodukčních charakteristik jikernaček.....	10
3.1.6. Hodnocení reprodukčních charakteristik mlíčáků.....	11
3.1.7. Optimalizace umělého oplodnění jiker - stanovení optimálního počet spermií na jednu oplozovanou jikru při umělém oplozování jiker.....	11
3.1.8. Umělé oplození všech jiker vytřených v rámci umělého výtěru této části projektu a masová inkubace jiker a stanovení oplozenosti jiker a líhnivosti larev.....	12
3.2. Masový výtěr generačních ryb pomocí syntetických analogů v porovnání s kapří hypofýzou.....	12
3.2.1. Použité generační ryby a skupiny ryb.....	12
3.2.2. Příprava dehydrovaných kapří hypofýz k aplikaci.....	13
3.2.3. Umělý výtěr, oplození a inkubace vzorků jiker.....	13
3.2.4. Statistické vyhodnocení.....	14
3.3. Masový výtěr generačních ryb bez hormonální stimulace.....	15
3.3.1. Generační ryby a jejich ošetření před ovulací jiker.....	15
3.3.2. Zjišťování ovulace jiker u generačních jikernaček a získání jiker.....	15
3.3.3. Získání spermatu od mlíčáků a oplození získaných jiker.....	15
3.3.4. Inkubace oplozených jiker v Zugských lahvích a líhnutí larev.....	16
3.4. Vysazení larev do rybníků a jejich odchov v rybnících do stádia rychleného plůdku ..	16
3.4.1. Výběr rybníků, jejich příprava a vysazení larev.....	16
3.4.2. Kontrola růst larev a juvenilních ryb v rybnících.....	17
3.5. Odlov rychleného plůdku z rybníků, vyhodnocení odchovu rychleného plůdku v rybnících a vysazení plůdku k dalšímu.....	17
3.6. Využití rychleného plůdku při odchovu juvenilních štiky v rybnících do konce 1. vegetačního období.....	18
4. VÝSLEDKY A ZÁVĚRY.....	19
4.1. Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s optimalizací umělého oplodnění vytřených jiker.....	19
4.1.1. Efektivita a doba latence u umělého výtěru hormonálně stimulovaného kapří hypofýzou.....	19
4.1.2. Plodnost jikernaček a celková produkce jiker.....	19
4.1.3. Plodnost mlíčáků při umělém výtěru.....	20
4.1.4. Optimalizace umělého oplodnění jiker - stanovení optimálního počtu spermií na jednu oplozovanou jikru při umělém oplozování jiker.....	21



4.1.5. Celková oplozenost vytřených jiker a produkce larev z umělého výtěr	21
4.1.6. Závěr a doporučení.....	21
4.2. Masový výtěr generačních ryb pomocí syntetických analogů v porovnání s kapří hypofýzou.....	22
4.2.1. Efektivita a doba latence u umělého výtěru hormonálně stimulovaného kapří hypofýzou.....	22
4.2.2. Plodnost jikernaček, přežití do očních bodů, pH ovariální plasmy a líhnivost	23
4.2.3. Závěr a doporučení.....	26
4.3. Masový výtěr generačních ryb bez hormonální stimulace.....	27
4.3.1. Průběh výtěru generačních jikernaček a jejich plodnost	27
4.3.2. Inkubace jiker, líhnutí a rozplavání larev	27
4.3.3. Závěr a doporučení.....	28
4.4. Odchov štiky obecné v rybnících do stádia rychleného plůdku	29
4.4.1. Vyhodnocení růstu a přežití juvenilních ryb štiky obecné do stádia rychleného plůdku	29
4.4.2. Závěr a doporučení.....	30
4.6. Využití rychleného plůdku při odchovu juvenilních štiky v rybnících do konce 1. vegetačního období.....	30
4.6.1. Růst ryb	30
4.6.2. Přežití odchovávaných ryb	30
4.6.3. Závěr a doporučení.....	31
5. PŘÍLOHY	32



1. Cíl

1.1. Co je cílem pilotního projektu

Cílem pilotního projektu bylo provozně otestovat nové a tradiční metody indukce masového výtěru generačních ryb štiky obecné. Při této části projektu bylo k indukci umělého výtěru generačních ryb štiky obecné využito experimentálně otestovaných hormonálních přípravků obsahujících syntetické analogy GnRHa a kapří hypofýzu. Dalším cílem pilotního projektu bylo optimalizovat inkubaci jiker štiky obecné v provozních podmínkách zahrnující optimalizaci líhnutí a rozplavání larev tohoto druhu. Dále v rámci tohoto pilotního projektu byla v provozních podmínkách testována produkce rychleného plůdku štiky obecné využívající optimální hustotu nasazovaných larev a optimální termín výlovu odchovávaného rychleného plůdku. Na konci odchovu rychleného plůdku štiky obecné v rybnících došlo k provoznímu ověření možnosti šetrného odlovu štiky obecné z rybníků. Po získání rychleného plůdku štiky obecné bylo dále otestováno uplatnění tohoto plůdku v rybničním chovu v polykulturách s kaprem obecným.

1.2. V čem tkví inovativnost testované technologie

Inovativnost testované technologie spočívá v optimalizaci reprodukce generačních ryb štiky obecné v provozních podmínkách s cílem zefektivnit produktivitu práce a současně získat kvalitní pohlavní produkty a následně oplozené jikry. Další inovativnost testované technologie tkví s optimalizací inkubace jiker štiky obecné, při které byly speciálně upravené běžné Zugské lahve používané na inkubaci různých druhů ryb. Cílem této části inovace bylo zajistit vysokou líhivost larev. Dalším inovativním prvkem projektu bylo optimalizovat odchov a výlov rychleného plůdku štiky obecné v rybnících a následně optimálně využít odchovaný plůdek v dalším odchovu v polykultuře s kaprem obecným.

1.3. Proč je nutná inovace, která je předmětem testování

Inovace technologického procesu spojeného s reprodukcí a chovem larev a juvenilních ryb štiky obecné je velmi důležitá v ČR pro zvýšení produkce tohoto druhu a dále využití tohoto druhu jako tzv. melioračního druhu v chovu jiných druhů ryb v rybnících, kde štika obecná významným způsobem potlačuje výskyt plevelných druhů ryb a tím zvyšuje produkci hospodářsky významných druhů ryb jako je především kapr obecný. Zvýšená produkce kvalitních larev a juvenilních ryb štiky obecné díky inovaci technologie může významným způsobem českému rybářství napomoci v diverzifikaci rybářské produkce, která je v současnosti z 90% založena na produkci kapra obecného. Snahou českého rybářství by v budoucnosti mělo být zvýšit produkci dalších druhů ryb – především hospodářsky ceněných druhů jako je: štika obecná, okoun říční, candát obecný atd. a tím docílit vyšší diverzifikace produkce českého rybářství. Výsledky tohoto projektu by tomuto procesu měly významným způsobem přispět.



2. Úvod

Štika obecná (*Esox lucius*) je považovaná za nejznámější a hospodářsky nejvýznamnější dravou rybu na evropském kontinentu (Craig, 2008). Obliba štiky obecné tkví především v jejím obrovském rozšíření a schopnosti přizpůsobit se životu v nejrůznějších podmínkách, ve kterých rychle roste a stává se často dominantním dravcem (Jacobsen a kol., 2007). V rybníčních chovech ryb se u štiky obecné využívá její meliorační vliv, kdy se štika chová v polykulturách především s kaprem obecným s cílem potlačit výskyt velikostně malých a méně hospodářsky cenných kaprovitých ryb v daném rybníku a tím zvýšit produkci chovaného kapra obecného (Hamáčková a kol., 1977). Podobný meliorační tlak štiky na malé kaprovité ryby se využívá u provozu vodárenských nádrží, kde štika eliminuje výskyt malých kaprovitých ryb, čímž podporuje rozvoj planktonu v nádržích zajišťující vysokou biologickou kvalitu vody (Hamáčková a Kouřil, 1978; Kouřil a Hamáčková, 1978).

Vedle melioračního významu štiky obecné v rámci chovu ryb a provozu vodárenských nádrží je štika obecná hojně vyhledávána konzumenty ryb, kteří preferují kvalitní rybí svalovinu bez kostí. Dále je štika obecná také hojně vyhledávána a lovena na rybářský prut sportovními rybáři. Obecně ryby čeledi *Esoxidae* jsou při sportovním rybolovu vyhledávány především kvůli houževnatosti a bojovnosti při chycení na udici.

Všechny tyto aspekty způsobují, že štika obecná je jedním z nejvýznamnějších hospodářsky využívaným dravým druhem ryby. Její produkce v ČR je založena především na rybníčním chovu, kde se štika obecná chová v malých koncentracích, ve kterých efektivně využívá potravní nabídky daného rybníku a současně eliminuje silný rozvoj méně hospodářsky významných druhů ryb (Hamáčková a kol., 1977). Produkce štiky obecné v rybnících je v ČR potažmo v celé Evropě velmi rozkolísaná a nedostatečná. Příčinou nedostatečné produkce je nedostatečně zvládnutá umělá reprodukce generačních ryb, málo efektivní inkubace jiker, odchov larev a juvenilních ryb v rybnících do stádia tzv. rychleného plůdku a nedostatečné uplatnění rychleného plůdku v dalším chovu (Craig, 2008; Kouřil a kol., 1976). Následkem nedostatečné produkce štiky je její absence na rybím trhu a vysoká prodejní cena. Tržní ryby se tak především v současné době do zemí střední a západní Evropy importují ze skandinávských a post-sovětských zemí, kde se štika obecná loví ve velkých jezerech či řekách.

Štika obecná trpí v umělých podmínkách rybích líhní středně silnou reprodukční dysfunkcí reprezentovanou neschopností podstoupení procesu finálního dozrání ovocytů a následné ovulace (Kouřil a Hamáčková, 1975; Hamáčková a kol., 1975; Kouřil a Hamáčková, 1977; Hamáčková a kol., 1975). Tento problém byl v minulosti řešen hypofyzací, která zůstává doposud jedinou spolehlivou metodou indukce ovulace u štiky obecné (Szabó 2001; Szabó 2003; Szabó 2008). Na rozdíl od jiných druhů ryb, kde bylo možno hypofyzaci účinně nahradit aplikací různých metod využívajících samotného GnRHa nebo jeho kombinaci s dopaminergními inhibitory (DI) (metoclopramid, pimozid, domperidon), tato hormonální indukce ovulace generačních ryb štiky obecné buď úplně selhala (Szabó 2003) anebo byla její efektivita jen těžko srovnatelná s úspěšností hypofyzace (Szabó, 2003). Problematičnost indukce ovulace u štiky obecné může tkvět v aplikaci nízkých dávek GnRHa a nevyužití možností nabízených preparátů s protražovaným účinkem. Štika obecná navíc patří k rybám, rozmnožujícím se v chladné vodě (9-12 °C) jako lososovité ryby, což může vést k nutnosti kontinuální a protražované stimulace zvýšené hladiny LH hormonů v krvi vzhledem k délce gametogeneze pod gonadotropinní kontrolou (Breton a kol., 1990). Využití preparátů s protražovaným účinkem v rámci umělého výtěru štiky obecné ve formě *water-in-oil* emulze GnRHa ve FIA (*Freundově inkompletním adjuvanci*) se zdají být po experimentálně



provedené práci u lososovitých ryb velmi perspektivní při využití v rámci rybářské praxe (Arabaci a kol., 2004; Vazirzadeh a kol., 2008).

Po reprodukci generačních ryb a oplození jiker se často v rybářských provozech setkáváme u štiky obecné s problémem, který je spojený s nízkou oplozeností jiker a vysokou úmrtností zárodků v průběhu inkubace (Szabó, 2003). Proto pro zvýšení efektivity reprodukce a inkubace jiker je důležité optimalizovat proces umělého osemenění jiker a dále inkubaci jiker do stádia líhnutí larev.

Nejvýznamnějším problémem odchovu larev a juvenilních ryb štiky obecné do stádia tzn. rychleného plůdku je vzájemný kanibalismus mezi odchovávanými rybami, který je zapříčiněn především nedostatečnou potravní nabídkou daných rybníků při odchovu (Giles a kol., 1986; Górný, 1992; Szczepkowski, 2009). Velmi důležité je tedy při odchovu rychleného plůdku optimalizovat počáteční hustotu odchovávaných ryb a termín výlovu odchovaného plůdku.

V rámci uplatnění starších kategorií štiky obecné v dalším chovu je nejdůležitějším problémem vzájemný kanibalismus štik, který vyžaduje štiky chovat při nízkých koncentracích, v členitém rybničním terénu, který se vyznačuje vysokou nabídkou úkrytů a vysokou koncentrací potravy v podobě menších druhů ryb (Hamáčková a kol., 1977).

Použitá literatura:

- Arabaci M., Diler I., Sari M., 2004. Induction and synchronization of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. *Aquaculture* 237: 475–484.
- Breton B., Well C., Sambroni E., Zohar Y., 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRH on GtH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 91: 371–383.
- Craig J.F., 2008. A short review of pike ecology – *Hydrobiologia* 601: 5-16.
- Giles N., Wright R.M., Nord M.E., 1986. Cannibalism in pike fry, *Esox lucius* L.: some experiments with fry densities – *J. Fish Biol.* 29: 107-113.
- Górný W., 1992. The influence of water temperature on mortality, growth and cannibalism in juvenile pike (*Esox lucius* L.) – *Arch. Pol. Fish.* 1: 27-31.
- Hamáčková J., Svobodová Z., Kouřil J., 1975. Hematologické hodnoty štiky obecné (*Esox lucius* L.) z rybničního chovu v předvýtěrovém období. *Živočišná Výroba*, 20(11): 851-860.
- Hamáčková J., Kouřil J., Chábera S., 1977. Přehled metod odchovu plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) *Bul. VÚRH Vodňany*, 13(2): 25-31.
- Hamáčková J., Kouřil J., 1978. Speciální zařízení pro odchov rychleného plůdku štiky. *Rybářství*, 1: 3.
- Jacobsen L., Skov C., Koed A., Berg S., 2007. Short-term salinity tolerance of northern pike, *Esox lucius*, fry, related to temperature and size – *Fish. Manag. Ecol.* 14: 303-308.
- Kouřil J., Hamáčková J., 1975. Plodnost štiky obecné (*Esox lucius* L.) z rybničního chovu. *Živočišná Výroba*, 20(11): 841-850.
- Kouřil J., Hamáčková J., 1977. Roční pohlavní cyklus štiky (*Esox lucius* L.) chované v rybnících. *Bul. VÚRH Vodňany*, 13(1): 8-16.
- Kouřil J., Hamáčková J., 1978. Odchov plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) v rybnících. *Rybářství*, 2: 27.
- Kouřil J., Hamáčková J., Svobodová Z., 1976. Exteriérové a kondiční ukazatele štiky obecné (*Esox lucius* L.) z rybničního chovu v předvýtěrovém období. *Bul. VÚRH Vodňany*, 12(3): 3-8.



- Szabó T., 2001. Hormonally induced ovulation of northern pike via sustained –release vehicles. *N.A.Jour. of Aqua.* 63:137–143.
- Szabó T., 2003. Ovulation induction in northern pike *Esox lucius* L. using different GnRH analogues, Ovaprim, Dagin and carp pituitary: *Aquaculture Research* 34: 479–486.
- Szabó T., 2008. Use of Carbopol resin for carp pituitary administration improves the fertilization percentage of northern pike (*Esox lucius*, L.) eggs in commercial hatcheries. *Hydrobiologia* 601:91–97.
- Szczepkowski M., 2009. Impact of selected abiotic and biotic factors on the results of rearing juvenile stages of northern pike *Esox lucius* L. in recirculating systems. *Arch. Pol. Fish.*, 17: 107-147.
- Vazirzadeh A., Hajimoradloo A., Esmaili H.R., Akhlaghi M., 2008. Effects of emulsified versus saline administration of GnRHa on induction of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 280: 267–269.



3. Materiál a metodika

3.1. Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s optimalizací umělého oplodnění vytřených jiker

3.1.1. Generační ryby

K realizaci projektu bylo použito 20 jikernaček a 32 mlíčáků o průměrné hmotnosti $2852 \pm 1333\text{g}$ a celkové délce $695 \text{ mm} \pm 96 \text{ mm}$, které byly nasazeny po 13 ks (5 ♀ a 7 ♂) do čtyř $2,5 \text{ m}^3$ nádrží na rybochovném objektu FROV JU. Nasazení ryb probíhalo v kontrolovaných podmínkách rybochovného objektu FROV JU při teplotě vody $9,1 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ a obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě $8,5 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$. Po vytvoření jednotlivých skupin byly ryby aklimatizovány 1 den a současně byla zvýšena teplota vody na $10,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.1.2. Značení ryb a hormonální injekce

Po jednodenní aklimatizaci byly ryby označeny PIT podkožními čipy pro přesnou identifikaci ryb při výtěru. Následně byly ryby před hormonální stimulací anestetizovány v 2-phenoxyethanolu o dávce $0,4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ a byla stanovena hmotnost a celková délka těla použitých ryb. Následovala vlastní hormonální injekce, která byla aplikována pod prsní ploutev ryb a při injekci byla použita jednorázová dávka kapří hypofýzy (CP) o dávce $4 \text{ mg CP} \cdot \text{kg}^{-1}$ u jikernaček a $2 \text{ mg CP} \cdot \text{kg}^{-1}$ u mlíčáků.

3.1.3. Kontrola generačních ryb po hormonální injekci

Ovulace jiker a stav genitální papily byly u jikernaček kontrolovány 24 hodin před předpokládaným umělým výtěrem. Počáteční interval kontroly generačních jikernaček se pohyboval na úrovni 3 hodin a po výtěru první jikernačky byla kontrola prováděna v intervalu 1 hodiny. Kontroly generačních jikernaček byly prováděny velmi opatrně, aby nedocházelo ke stresu a poranění těla generačních ryb.

3.1.4. Vlastní umělý výtěr

V případě, že kontrolovaná jikernačka uvolňovala jikry, byla odlovena z nádrže. Pro zklidnění jikernačky před výtěrem bylo použito anestezie ve stejné koncentraci jako při hormonální injekci. Po zklidnění byla jikernačka vždy zabalena do vlhké tkaniny. Před vlastním výtěrem byla osušena břišní partie jikernačky a umělý výtěr byl proveden postupným masírováním jednotlivých částí břišních partií těla. Ovulované jikry byly vytírány do předem zvážených a označených suchých misek. Do jedné misky byla vždy vytřena odděleně jedna jikernačka.

3.1.5. Hodnocení reprodukčních charakteristik jikernaček

Po ukončeném výtěru vždy dané jikernačky byly z celkové snůšky jiker, která byla zvážena na Kern PCB 800 s přesností $0,01 \text{ gramu}$, odebrány tři vzorky jiker o přibližné hmotnosti kolem 1 gramu . Tyto vzorky byly následně zváženy na analytických vahách KERN ALJ 220-4 s přesností $0,0001 \text{ gramu}$. Poté byl v každém zváženém vzorku jiker spočítán počet jiker ve vzorku, ze kterého byl výpočtem získán počet jiker na 1 gram .



Absolutní plodnost jikernačky by získána, když byla zvážena celá snůška jiker ještě před odběrem jednotlivých vzorků. Relativní plodnost jikernačky (počet jiker či hmotnost jiker (g) na 1 kilogram hmotnosti) byla vyhodnocena tak, že absolutní plodnost byla vydělena hmotností dané jikernačky v kilogramech.

Údaje o výtěru (datum, čas, číslo jikernačky a pracovní plodnost jikernačky) byly zaznamenány do výtěrových listů. Z data a času daného výtěru byla po výtěrovém období u každé jikernačky spočítaná délka latence – období od hormonální injekce po vlastní výtěr jikernačky ve dnech, hodinách a denních stupních. Vedle latence výtěru byla ze zjištěných údajů ve výtěrových listech po výtěrovém období stanovena také efektivita (úspěšnost) výtěru (procento vytřených ryb) a celková produkce jiker od všech vytřených jikernaček.

3.1.6. Hodnocení reprodukčních charakteristik mlíčáků

Sperma od 32 generačních mlíčáků bylo odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 5-10 mililitrů. Před vlastním odběrem byla břišní masáží co nejvíce odstraňována moč. Až po vyprázdnění močového měchýře bylo sperma nasáváno do injekčních stříkaček.

U těchto mlíčáků byl zjišťován objem získaného spermatu v mililitrech, hustota spermií v miliardách na 1 mililitr spermatu a poté absolutní a relativní celkový počet získaných spermií od jednoho mlíčáka, když se objem spermatu vynásobil hustotou spermií na 1 mililitr spermatu. Objem spermatu byl zjišťován pomocí injekční stříkačky s přesností na 0,1 mililitru. Hustota spermií byla zjišťována mikroskopicky pomocí Bürkerovy počítací komůrky. Sperma bylo 10 000x zředěno fyziologickým roztokem (0,7 % NaCl) a následně 10 μ ml zředěného spermatu bylo nanášeno do počítací komůrky pod mikroskop. Zde sperma bylo spočítáno v 20 čtvercích. Také byla pod mikroskopem na podložním skle v kapce vody hodnocena délka období pohyblivosti spermií.

3.1.7. Optimalizace umělého oplodnění jiker - stanovení optimálního počtu spermií na jednu oplozovanou jikru při umělém oplozování jiker

V této části projektu byla snaha o optimalizaci umělého oplození vytřených jiker, kdy pro tento účel byl stanoven optimální počet spermií na jednu oplozovanou jikru s cílem dosáhnout nejvyššího oplození jiker.

U pěti vybraných mlíčáků byla stanovena koncentrace a motilita spermií. Dva mlíčáci s nejnižší motilitou a koncentrací spermií byly vyřazeni. Poté bylo odváženo 18 vzorků jiker o hmotnosti 10 g od jedné vytřené jikernačky (cca 22 000 jiker). Tyto vzorky jiker byly použity na oplozovací test při testování různého počtu spermií použitých na 1 oplozovanou jikru (1 000, 10 000, 50 000, 100 000, 500 000 a 1 000 000). Následně se vypočítaly jednotlivé objemy spermatu, aby nám odpovídaly jednotlivému testovanému množství spermií na jednu oplozovanou jikru. Jednotlivé objemy byly nanášeny na vzorky jiker pomocí pístové mikropipety, vodou z líhne o objemu 5 ml byly spermie aktivovány a tím byly jikry oplodněny. Následně oplozené jednotlivé jikrné vzorky byly inkubovány v miniaturních Rückel-Vackových aparátech (Kallert, 2009) s možností individuální regulace přítoku vody. Aparáty byly umístěny v recirkulačním systému v rámci rybochovného zařízení FROV JU vybaveného termostatickým chladičem, který v průběhu inkubace udržoval teplotu vody na 13°C. Obsah kyslíku při inkubaci jiker byl 10,1 mg.l⁻¹ a hodnota pH se pohybovala okolo 7. Vzorky jiker byly po umístění do inkubačních aparátů ponechány v naprostém klidu až do zřetelného dosažení stádia očních bodů. Poté byly všechny žijící a neoplozené jikry spočítány a byla stanovena oplozenost jiker (%) = (počet jiker v očních bodech/počet všech nasazených



jiker)*100 a po vylíhnutí larev byla stanovena líhivost larev (%) podle vzorce = počet živých vylíhnutých larev/počet všech nasazených jiker)*100. Všechny hodnoty oplozenosti jiker a líhivosti larev jsou ve výsledcích prezentovány jako průměr ± standardní chyba. Statistické zpracování bylo provedeno pomocí statistického programu Statistica software 6.1., kdy byla použita jednofaktoriální analýza variance ANOVA ($P < 0.05$), Tuckey's multiple comparison test a neparametrický Kruskal-Wallis's test.

3.1.8. Umělé oplození všech jiker vytřených v rámci umělého výtěru této části projektu a masová inkubace jiker a stanovení oplozenosti jiker a líhivosti larev

Po výtěru všech jikernaček byla většina jiker, které nebyly použity pro testování optimálního poměru spermií a jiker při umělém oplodnění, oplozeny spermatem získaným od několika mlíčáků (podle metodiky části 3.1.7., v poměru alespoň 500 000 spermií na 1 oplozovanou jikru). Následně byly oplozené jikry inkubovány v upravených 10 litrových Zugských lahvích s vloženým umělým trychtýřem, který rovnoměrně distribuoval vodu v lahvi při teplotě vody 13°C. Po 3-4 dnech inkubace byla stanovena oplozenost jiker (viz část 3.1.7.) a následně po vylíhnutí larev i líhivost (viz část 3.1.7.).

3.2. Masový výtěr generačních ryb pomocí syntetických analogů v porovnání s kapří hypofýzou

3.2.1. Použité generační ryby a skupiny ryb

Na jaře 19. 3. 2012 byly generační jikernačky (21 ks) ve věku 4-5 let (hmotnost= 4600±1450g) přivezeny z Rybářství Nové Hrady s. r. o. na experimentální rybochovné zařízení FROV JU. Jikernačky byly zváženy s přesností 1g, individuálně označeny PIT čipy a rovnoměrně náhodně rozděleny do 6 nádrží (skupin) o objemu 600 litrů po 7 ks. Generační mlíčáci (40 ks) ve věku 2 let (870±220g) byli dovezeni o den později a umístěni do 2 dvou nádrží po 20 ks o objemu 600 l. Nádrže byly zásobovány přítokem průtočné vody z řeky Blanice. Teplota vody při nasazení ryb byla 7°C. Obsah kyslíku se stabilně pohyboval okolo 11,5 mg.l⁻¹. Všechny ryby byly drženy při přirozené fotoperiodě platné pro danou oblast a roční období. Do 22. 3. 2012 byla teplota vody postupně zvyšována na 9,5°C a ryby byly intraperitoneálně injikovány syntetickým analogem lososího GnRHa v kombinaci s/bez dopaminergním/ho inhibítorem/u metoclopramidem/du a kapřími hypofýzami (CP) podle níže uvedeného schématu:

1. skupina (sGnRHa+MET+FIA): byl aplikován lososí sGnRHa D-Arg⁶Pro⁹NEt (40-50 µg.kg⁻¹ živé hmotnosti) v kombinaci s dopaminergním inhibítorem metoclopramidem (8-10 mg.kg⁻¹) s následnou emulsifikací ve Freundově inkompletním adjuvanciu (FIA) po rozpuštění ve fyziologickém roztoku 0,9% NaCl v poměru 1:1 (50 µg sGnRHa a 10 mg metoclopramidu bylo rozpuštěno v 0,5ml fyziologického roztoku a poté homogenizováno s 0,5 ml FIA. Každá jikernačka v této skupině tedy obdržela injekci o objemu 1ml na 1 kg hmotnosti. Podobně tomu bylo i u ostatních skupin ryb,



2. skupina (sGnRHa+MET): byl aplikován lososí sGnRHa D-Arg⁶Pro⁹NEt (40-50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti) v kombinaci s dopaminergním inhibítorem metoclopramidem (8-10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), látky byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku 0,9% NaCl,
3. skupina (sGnRHa-FIA): byl aplikován lososí sGnRHa D-Arg⁶Pro⁹NEt (40-50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti) s následnou emulsifikací ve FIA po rozpuštění ve fyziologickém roztoku 0,9% NaCl v poměru 1:1 (50 μg sGnRHa bylo rozpuštěno v 0,5ml fyziologického roztoku a poté homogenizováno s 0,5 ml FIA,
4. skupina (CP 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$): byly aplikovány kapří hypofýzy rozpuštěné v 0,9% fyziologickém roztoku NaCl (akutní aplikace) v dávce 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,
5. skupina (CP-FIA 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$): byly aplikovány kapří hypofýzy rozpuštěné v 0,9% fyziologickém roztoku NaCl a následně homogenizované ve FIA v poměru 1:1 v dávce 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,
6. skupina (Kontrola): aplikován 0,9% fyziologický roztok NaCl homogenizovaný ve FIA v poměru 1:1.

Mlíčákům byla podána akutní injekce kapří hypofýzy v dávce CP 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ve stejný den jako byla provedena hormonální injekce u jikernaček.

3.2.2. Příprava dehydrovaných kapřích hypofýz k aplikaci

Dehydrované kapří hypofýzy byly pořízeny z rybářského podniku Rybníkářství Pohořelice a.s.. Pro akutní aplikaci bylo požadované množství hypofýz nejprve naváženo na analytických předvážkách s přesností na 0,01mg (Mettler AE 200, Toledo, LLC, 1900 Polaris Parkway, Columbus, OH 43240, USA). Navážené množství hypofýz bylo převedeno do keramické třecí misky a pomocí keramického tlučíku rozmělněno na co nejjemnější prášek. Poté byl do třecí misky přidán 0,9% roztok NaCl (Fresenius Kabi S. r. l., Verona, Itálie) v takovém objemu, aby výsledná koncentrace hypofýz činila 4mg v jednom 1ml suspenze. Injikované štiky pak obdržely 1ml suspenze hypofýz na 1kg živé hmotnosti.

Pro přípravu protrahované metody hormonální injekce byla podobným způsobem jako výše připravena suspenze dehydrovaných hypofýz v požadované koncentraci na 0,5ml 0,09% fyziologického roztoku s ohledem na průměrnou hmotnost jikernaček. Ke každému 0,5ml takto připravené suspenze bylo přidáno 0,5ml FIA a celý obsah byl mixován pomocí homogenizátoru Ika T-10 pro dosažení rovnoměrné emulze. Injikované štiky pak byly injikovány objemem 1ml emulze na 1 kg hmotnosti injikovaných ryb.

3.2.3. Umělý výtěr, oplození a inkubace vzorků jiker

Před jakoukoli manipulací byly ryby anestetizovány v lázni hřebíčkového oleje o koncentraci 0,03 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$. Kontrola ovulujících jikernaček byla realizována podobně jako u předchozích částí projektu. K první zjištěné ovulaci a tím k prvnímu umělému výtěru došlo 4. den po provedené hormonální injekci při teplotě vody 10°C. Jikernačka byla považována za ovulující, pokud po mírné palpaci na dutinu břišní došlo k uvolnění jiker. Jikry byly vytřeny do polyetylenové misky a zváženy pro zjištění hodnot relativní plodnosti (RP). Relativní plodnost (hmotnost jiker na 1 kg hmotnosti jikernačky) byla spočítána podle vzorce: $RP =$



$A \times 100/B$, kde A = hmotnost vytřených jiker (g); B = hmotnost jikernačky před výtěrem (kg). Poté byla miska přikryta vlhkým hadrem a umístěna do místnosti o teplotě 5°C . Po provedení výtěru všech ovulujících jikernaček byla v jednotlivých miskách změřena hodnota pH ovariální plasmy (inoLAB 720 pH meter, WTW, 823 62 Weilheim, SRN). Jelikož se pH ovariální plasmy v různých místech vrstvy vytřených jiker liší, bylo v každé misce provedeno 5 měření. Následně u každé jikernačky bylo na analytických vahách KERN ALJ 220-4 s přesností na 0,1 mg zváženo 5 vzorků po 15 jikrách. Z tohoto vážení byla zjištěna průměrná hmotnost jedné jikry od dané jikernačky a následně potom absolutní a relativní plodnost v podobě absolutního a relativního počtu jiker na 1 jikernačku či na 1 kg hmotnosti vytíraných ryb. Dále také bylo zjištěno, kolik jiker je průměrně obsaženo v 1 gramu jiker.

Následně pro oplození jiker od jedné jikernačky bylo po kontrole motility použito sperma od tří mlíčáků. Sperma bylo vytlačováno a odebíráno pomocí injekční stříkačky o objemu 2ml. Na jednoho mlíčáka byla pro odběr použita 1 injekční stříkačka a sperma od více mlíčáků bylo smícháno až v procesu oplozování jiker. Pro vyloučení faktoru mlíčáků v kontrole kvality jiker bylo sperma na jikry aplikováno v dostatečném přebytku (2 ml spermatu na oplození 150 gramů jiker). Pro aktivaci gamet byl použit „štičí“ oplozovací roztok (Steffens, 1986; Hochleithner, 2004) obsahující $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \text{ CO}(\text{NH}_2)_2$ (Sigma Aldrich, Sokolovská 100/94, 186 00 Praha 8, ČR) a $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \text{ NaCl}$ o objemu 50 mililitrů na 100 gramů jiker. Tento oplozovací roztok mírně snižuje lepivost jiker a dovolil nám po oplození od každé jikernačky rychlý a snadný odběr 3 vzorků ($250 \pm 20 \text{ ks}$) jiker bez zdlouhavého odlepkování.

Celkem tři vzorky jiker od každé jikernačky byly umístěny do miniaturních Rückel-Vackových aparátů (Kallert, 2009) s možností individuální regulace přítoku vody. Aparáty byly umístěny v recirkulačním systému vybaveném termostatickým chladičem, který v průběhu inkubace udržoval teplotu vody na 13°C . Obsah kyslíku při inkubaci jiker byl $10,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a hodnota pH se pohybovala okolo 7. Vzorky jiker byly po umístění do inkubačních aparátů ponechány v naprostém klidu až do zřetelného dosažení stádia očních bodů. Poté byly všechny žijící a neoplozené jikry přepočítány a zkontrolovány na výskyt SES (larvy s výskytem malých očních bodů). Jikry ve stádiu očních bodů byly vráceny zpět do inkubátorů k dokulení a zjištění líhivosti. Přežití do stádia do očních bodů (OB) bylo počítáno podle vzorce: $OB = C \times 100/D$ kde C = počet jiker v očních bodech; D = celkový počet jiker v inkubátoru. Frekvence výskytu SES (podíl larev s malými očními body) byla počítána podle vzorce: $SES = E \times 100/C$ kde E = počet jiker se syndromem malých očních bodů; C = počet jiker v očních bodech. Líhivost (L) byla počítána podle vzorce: $L = F \times 100/D$ kde F = počet vykulených larev; D = celkový počet jiker v inkubátoru. Procento nevykulených larev (NL) bylo počítáno podle vzorce: $NL = G \times 100/C$ kde G = počet nevykulených larev a C = počet jiker v očních bodech.

3.2.4. Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení dat z této části experimentu bylo provedeno v programu Statistica 9.0 CZ (StatSoft Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, USA). Rozdíly v relativní plodnosti byly vyhodnocovány pomocí t-testu pro nezávislá pozorování. Hierarchická analýza rozptylu (*Hierarchical ANOVA*) byla využita pro zjištění rozdílů v hodnotě pH ovariální plasmy, přežití do očních bodů, frekvence výskytu SES, líhivosti a procenta nevykulených larev. Vztahy mezi pH ovariální plasmy, přežitím do očních bodů a líhivostí byly zjišťovány pomocí lineární regresní analýzy. Předpoklady použití ANOVY byly provedeny ověřením normality (Kolmogorov-Smirnovův test) a homoskedasticity (Cochran-Bartlettův test a Levenův test) souboru dat. Pro transformaci procentuálních dat



byla použita arcsinová transformace. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Data jsou zobrazeny v průměrné hodnotě \pm standardní chyba průměru.

3.3. Masový výtěr generačních ryb bez hormonální stimulace

3.3.1. Generační ryby a jejich ošetření před ovulací jiker

K této části projektu bylo použito celkem 40 ks generační jikernaček o průměrné hmotnosti 3050 ± 856 g a celkové délce $785 \text{ mm} \pm 102 \text{ mm}$ a 45 ks mlíčáků o průměrné hmotnosti 1250 ± 250 g a celkové délce $531 \text{ mm} \pm 52 \text{ mm}$. Tyto generační ryby byly 14. 3. 2012 dovezeny do Rybářství Nové Hrady s.r.o. z Rybářství Kardašova Řečice. Ryby byly po transportu znehybněny v anestetiku hřebíčkový olej ($0,03 \text{ ml.l}^{-1}$), změřeny, zváženy, označeny podkožními PIT čipy a nasazeny do sádky nedaleko rybí líhně Rybářství Nové Hrady. Nasazeným generačním rybám bylo do sádky nasazeno cca 250 kg malých plevných krmných ryb o velikosti TL= 150 - 350 mm. Nasazené generační ryby byly v dané sádce ponechány v klidu a každý den ráno v 7:00 a odpoledne 14:00 byla v sádce měřena teplota vody a bylo sledováno chování nasazených ryb. Teplota vody v průběhu období od 14. 3. do 22. 3. se postupně oteplovala z $4,2^{\circ}\text{C}$ na $7,0^{\circ}\text{C}$ a v tomto období byla sledována i změna v chování generačních ryb, kdy první ryby začaly postávat v průběhu dne na okrajích sádky. Nejprve to byly jedinci a následně až desítky ryb. Z tohoto chování bylo usouzeno, že některé ryby jsou připravené k výtěru.

3.3.2. Zjišťování ovulace jiker u generačních jikernaček a získání jiker

Při hromadné změně chování generačních ryb v sádce, byla sádka spuštěna a ryby ovulující jikry byly odloveny a přeneseny do rybí líhně Rybářství Nové Hrady. Ryby, které neovulovaly jikry byly vráceny do sádky a byly zde sledovány a následně kontrolovány při dalších výtěrech. Přenesené ovulující ryby byly v rybí líhni Rybářství Nové Hrady znehybněny v anestetiku hřebíčkový olej ($0,03 \text{ ml.l}^{-1}$), následně osušeny a postupnou palpací břišní dutiny vytírány do předem připravených a zvážených misek. Po výtěru všech jikernaček byla zjištěna hmotnost snůšky u každé vytřené jikernačky, počet jiker na 1 gram podobně jako u předchozích částí projektu. Následně se přistoupilo k oplození získaných jiker.

3.3.3. Získání spermatu od mlíčáků a oplození získaných jiker

Na počet jikernaček byl vždy při jednotlivých výtěrech generačních ryb použit stejný počet mlíčáků, kdy polovina mlíčáků byla vždy usmrcena pro získání testikulárního spermatu a polovina mlíčáků (mlíčáci, co samovolně uvolňovali sperma) byla použita pro odběr vytlačovaného spermatu. Vytlačované sperma bylo odebírané podobným způsobem jako u prvních dvou částí tohoto projektu. Testikulární sperma bylo získáno, když bylo vyjmuté testes z mlíčáků, které následně bylo rozstříhané a rozmačkané přes jemný uhelon přímo na oplozované jikry. Snahou bylo vždy použít při oplození jiker nekontaminované sperma močí či krví v dávce 2 ml spermatu na 300 gramů jiker. Po aplikaci spermatu na jikry došlo k zamíchání směsi jiker a spermií a směs gamet byla zalita vodou z líhně o objemu 150 ml vody na 300 gramů jiker. Po 2 minutovém odstavení směsi jiker a spermií došlo k výměně



vody v misce a odlepkování jiker pomocí jemného rybničního bahna, které se aplikovalo do misky, kde se cca 20 minut promíchávalo v dané misce.

3.3.4. Inkubace oplozených jiker v Zugských lahvích a líhnutí larev

Následně se oplozené a odlepkované jikry vysadily na inkubaci do předem připravených Zugských lahví, kdy do každé 10 litrové lahve se vysazovaly již smíchané oplozené jikry (cca 1,5 kg jiker na 1 láhev) od všech vytřených jikernaček v daný den. Pro inkubaci oplozených jiker štiky obecné byly použity speciálně upravené Zugské lahve s vloženým děrovaným trychtýřem, který jemně distribuoval vodu v rámci dané lahve, což umožnilo jikrám se jen jemně pohybovat bez nějakých výrazných pohybů a otřesů. V rámci inkubace byla denně měřena teplota vody a na konci inkubace byly objemovou metodou spočítány vylíhnuté larvy, byla stanovena líhivost a následně délka inkubace. Ještě před vlastním líhnutím byla embrya přenesena do transportních pytlů o objemu 20 litrů s kyslíkovou atmosférou (10 litrů vody a 10 litrů kyslíku). Pytle s embryi byly přeneseny z líhne ven, kde byly vystaveny slunečnímu svitu. Tím došlo k zvýšení teploty vody a k zvýšení koncentrace líhnoucích enzymů v transportním pytli, což umožnilo synchronizovat líhnutí larev. Po vylíhnutí larev byly larvy s vodou přeplaveny do plochých vaniček, kde pomocí rozdílné hmotnosti byly odděleny slupky jiker (lehké u hladiny) a vylíhnuté larvy (těžké u dna). Čisté vylíhnuté larvy byly nasazeny do kolíbek nebo Rückel-Vackových aparátů k zavěšení a následně k rozplavání.

3.4. Vysazení larev do rybníků a jejich odchov v rybnících do stádia rychleného plůdku

V rámci ověřování odchovu rychleného plůdku štiky obecné byly použity larvy, které byly získané v předchozích částech projektu.

3.4.1. Výběr rybníků, jejich příprava a vysazení larev

Pro odchov rychleného plůdku bylo předem vytipováno 6 rybníků Rybářství Nové Hradky a FROV JU viz Tab. 1. Ve třech menších rybnících s větší břehovou linií byla testována hustota 300 000 larev na 1 hektar a ve větších produkčních rybnících nižší hustota larev 100 000 na 1 hektar. Rybníky byly před nasazením minimálně 1 měsíc napuštěny vodou a předem nahnojeny kompostem v dávce 400 kg kompostu na 1 hektar vodní plochy. Snahou bylo podpořit vývoj planktonního společenstva v rybníku před nasazením larev. Larvy do produkčních rybníků byly nasazeny 10. 4. 2012 a larvy do menších rybníků byly nasazeny 19. 4. 2012. Odchovy larev v rybnících byly realizovány v 15 dnech v závislosti na výskytu hrubého zooplanktonu v rybníce, který byl v každém rybníku monitorován a vyhodnocován 1x za 2 dny. Při zjištěném sníženém výskytu zooplanktonu v rybníku byl odchov larev v rybnících ukončen a larvy byly z rybníku sloveny. Výjimkou byl rybník Kamenný, u kterého bylo zaznamenáno dlouhé období (28 dní) bohatého výskytu hrubého zooplanktonu. U tohoto rybníku byl odchov rychleného plůdku prodloužen až na 28 dní.



Tab. 1. Charakteristika rybníků využitých pro odchov rychleného plůdku štiky obecné

Rybník	Výměra (ha)	Počáteční hustota embryí skutečná/.ha ⁻¹	Nadmořská výška (m.n.m.)	Napuštění vodou	Nasazení larev	Délka odchovu (dny)	Výlov
Kamenný	1,54	154 000/ 100 000	520	7.3.	10.4.	28	26.4.
Srnec	1,14	114 000/ 100 000	528	7.3.	10.4.	15	9.5.
Bejkovna	1,33	133 000/ 100 000	478	7.3.	10.4.	15	26.4.
Experimentální rybník 64	0,16	48 000/ 300 000	420	26.3.	19.4.	15	4.5.
Experimentální rybník 65	0,16	48 000/ 300 000	420	26.3.	19.4.	15	4.5.
Experimentální rybník 66	0,16	48 000/ 300 000	420	26.3.	19.4.	15	4.5.

3.4.2. Kontrola růst larev a juvenilních ryb v rybnících

V pravidelných 3 denních intervalech byly realizovány na každém rybníce kontrolní odlovy odchovávaných ryb, při kterých byl monitorován růst odchovávaných ryb. V rámci každého kontrolního odlovu bylo odloveno minimálně 15 odchovávaných ryb. Odběr odchovávaných ryb při prvních dvou odběrech byl zprvu proveden pomocí ichtyoplanktonní sítě (ø 50 cm; 100 µm). Při pozdějších odlovech byly odchovávané ryby odlovovány pomocí záťahové sítě (10x2 m, vel. ok 1mm). Odběr vzorků ryb byl prováděn tak, aby vždy při jednom kontrolním odběru v rybníce bylo odebráno alespoň 15 ks ryb. Takovýto vzorek ryb byl následně fixován 4% formaldehydem. Při výlovu všech rybníků byl také podobným způsobem zafixován vzorek 30 odchovaných ryb. U takto získaných vzorků ryb byla pomocí programu QuickPhoto (Olympus) změřena celková délka těla ryb (TL v mm) a zvážena hmotnost (W v miligramech) odchovávaných ryb pomocí váhy Kern a Sohn GmbH, Balingen, Germany s přesností na 0,1 miligramu. U jednotlivých vzorků z každého rybníku byly poté spočítány průměrné hodnoty dosažené celkové délky a hmotnosti ryb. Následně byly tyto růstové ukazatele statisticky porovnány mezi rybníky jednofaktoriální ANOVOU. Následně byla u každého rybníku ze zjištěných údajů o hmotnosti ryb vypočítána i hodnota specifické rychlosti růstu ryb (SGR) podle vzorce $SGR = 100/T * \log(W2/W1)$, kdy T je délka odchovu, W2 je konečná hmotnost ryb v daném odchovu a W1 je počáteční hmotnost ryb při daném odchovu.

3.5. Odlov rychleného plůdku z rybníků, vyhodnocení odchovu rychleného plůdku v rybnících a vysazení plůdku k dalšímu odchovu

Při zjištění sníženém výskytu hrubého zooplanktonu byl okamžitě u daného rybníku stanoven termín výlovu rybníku. Při stanovení výlovu odchovaných ryb bylo u rybníku připraveno lovení ryb pod hrází rybníku do podložní sítě. Ryby byly postupně splavovány



z rybníků pod hráz, kde byly z podložní sítě ryby loveny, tříděny pomocí třídiček, počítány, nasazovány na terénní automobily a následně vysazovány do rybníků, které byly určené pro další odchov juvenilních ryb štiky obecné do konce 1. vegetačního období. Po výlovu rychleného plůdku v daném rybníce byl odchov vyhodnocen z hlediska dosaženého růstu ryb a z hlediska přežití odchovaných ryb.

3.6. Využití rychleného plůdku při odchovu juvenilních štiky v rybnících do konce 1. vegetačního období

Pro tuto část projektu bylo předem vytipováno 5 produkčních rybníků (charakteristika viz Tab. 2), kde byla odchovávána kapří násada z kategorie K2 do K3 o počáteční kusové hmotnosti 80 gramů do finální hmotnosti 470 – 650 gramů. Zmíněná kapří násada byla do rybníků nasazována při jarních výloveh (březen – duben) o počáteční hustotě 1000 ks.ha⁻¹. Tyto rybníky byly pro pokračující odchov štiky obecné vytipovány především, protože rybníky disponují členitými břehy a současně rybníky v předcházejících letech byly poměrně hodně zatíženy plevelnými rybami, které snižovali přírůstek kapří násady. Násada štiky v podobě rychleného plůdku byla do rybníku nasazena v hustotě 1000 ks na 1 hektar, kdy ryby byly vysazované po jedincích kolem celého obvodu rybníka do litorálních partií. Násada štiky obecné měla v rybnících eliminovat výskyt plevelných ryb. V průběhu odchovu byly rybníky v měsíčních intervalech navštíveny a odchovávané štiky odlovovány stejným způsobem, jako ryby chované do kategorie rychleného plůdku. Odlovené ryby byly stejným způsobem fixovány a biometricky vyšetřeny jako ryby chované do kategorie rychleného plůdku. Na konci odlovu (při výlovu rybníků) byly všechny slovené ryby štiky obecné spočítány, zváženy na přenosných vahách KERN-40X s přesností na 1g a změřeny pravítkem s přesností na 1 mm. Následně byl vyhodnocen tento odchov štiky obecné v podobě růstu a přežití ryb. Současně byl také vyhodnocen stav plevelných ryb v použitých rybnících a pozitivní efekt vysazené štiky obecné na potlačení výskytu plevelných ryb.

Tab. 2. Charakteristika rybníků využitých při odchovu juvenilní štiky obecné do konce 1. Vegetačního období

Rybník	Výměra (ha)	Počet nasazených ryb štiky obecné	Datum nasazení	Datum výlovu	Délka odchovu (dny)
Dobrá	4	4 000	26.4.	9.10.	192
Jan	4	4 000	26.4.	9.10.	192
Hospodář	2,4	2 400	26.4.	2.10.	185
Smolek	2,9	2 900	26.4.	9.10.	192
Praseto velké	1,2	1 200	26.4.	9.10.	192



4. Výsledky a závěry

4.1. Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s optimalizací umělého oplodnění vytřených jiker

4.1.1. Efektivita a doba latence u umělého výtěru hormonálně stimulovaného kapří hypofýzou

Při umělém výtěru jikernaček štiky obecné bylo úspěšně vytřeno 95 % jikernaček a 100% mlíčáků (Tab. 3). Obecně lze konstatovat, že s reprodukci mlíčáků u štiky obecné (s uvolňováním a produkcí spermatu) je částečně problém jen s kontaminací spermatu močí a v některých případech se získáním malého objemu spermatu. Podle našich zkušeností doporučujeme v rámci umělého výtěru použít poměr mezi mlíčáky a jikernačkami minimálně 3:1. Doba latence (čas od injekce do vlastního výtěru) u generačních ryb byla $96,0 \pm 14,4$ (Tab. 3).

Tab. 3. Efektivita a doba latence u umělého výtěru štiky obecné (*Esox lucius*)

Ukazatel	Hodnota
Počet vytřených jikernaček (ks)	19
Procento vytřených jikernaček (%)	95
Počet vytřených mlíčáků (ks)	32
Procento vytřených mlíčáků (%)	100
Latence výtěru ve dnech (dny)	$4,0 \pm 0,6$
Latence výtěru v hodinách (hodiny)	$96,0 \pm 14,4$
Latence výtěru v denních stupních (°d)	$42,0 \pm 6,3$

4.1.2. Plodnost jikernaček a celková produkce jiker

Při umělých výtěrech byla absolutní plodnost jikernaček od 36 000 jiker do 180 000 jiker na 1 jikernačku a průměrná absolutní plodnost jikernaček byla $102\,947 \pm 37\,559$ jiker. kg^{-1} (Tab. 4). Relativní plodnost jikernaček byla vyhodnocena v rozmezí od $7\,660$ jiker. kg^{-1} do $34\,282$ jiker. kg^{-1} a průměrná relativní plodnost byla na úrovni $26\,372 \pm 5\,519$ jiker. kg^{-1} (Tab. 4). Při hodnocení plodnosti jikernaček bylo také zjištěno, že 1 g jiker obsahuje 120 ± 9 jiker (Tab. 3). Celkem bylo při umělém výtěru generačních jikernaček získáno 1 956 000 jiker.



Tab. 4. Absolutní a relativní plodnost u umělého výtěru štiky obecné

Ukazatel	Hodnota
Plodnost jikernaček absolutní (počet jiker. jikernačka ⁻¹)	102 947 ± 37 559
Absolutní hmotnost jiker na 1 jikernačku (g)	858 ± 312
Plodnost jikernaček relativní (počet jiker.kg ⁻¹)	36 096 ± 13 413
Relativní hmotnost jiker na 1 kg jikernačky (g)	300,8 ± 96,5
Počet jiker v 1 gramu (ks)	120,0 ± 9

4.1.3. Plodnost mlíčáků při umělém výtěru

Při umělém výtěru bylo u 32 mlíčáků odebráno sperma o průměrném objemu $2,5 \pm 1,21$ ml od jednoho mlíčáka (Tab. 5). Minimálně bylo od jednoho mlíčáka odebráno 0,8 ml spermatu a maximálně 5 ml spermatu. Podle makroskopického hodnocení byla hustota spermatu hodnocena jako řídká a konzistence spermatu jako velmi řídká. Mikroskopicky byla hodnocena koncentrace a motilita spermií (Tab. 5). Koncentrace se pohybovala od $8,59 \cdot 10^9$ spermií.ml⁻¹ do $31,1 \cdot 10^9$ spermií.ml⁻¹ a průměrná hodnota byla $18,54 \pm 7,5 \cdot 10^9$ spermií.ml⁻¹. Motilita spermií byla vyhodnocena do 30-45 sekund. Celkově bylo spočítáno, že jeden mlíčák uvolnil v rámci umělého výtěru v průměru $46,35 \cdot 10^9$ spermií respektive $20,95$ spermií.kg⁻¹.

Tab. 5. Makroskopické a mikroskopické ukazatele plodnosti mlíčáků štiky obecné

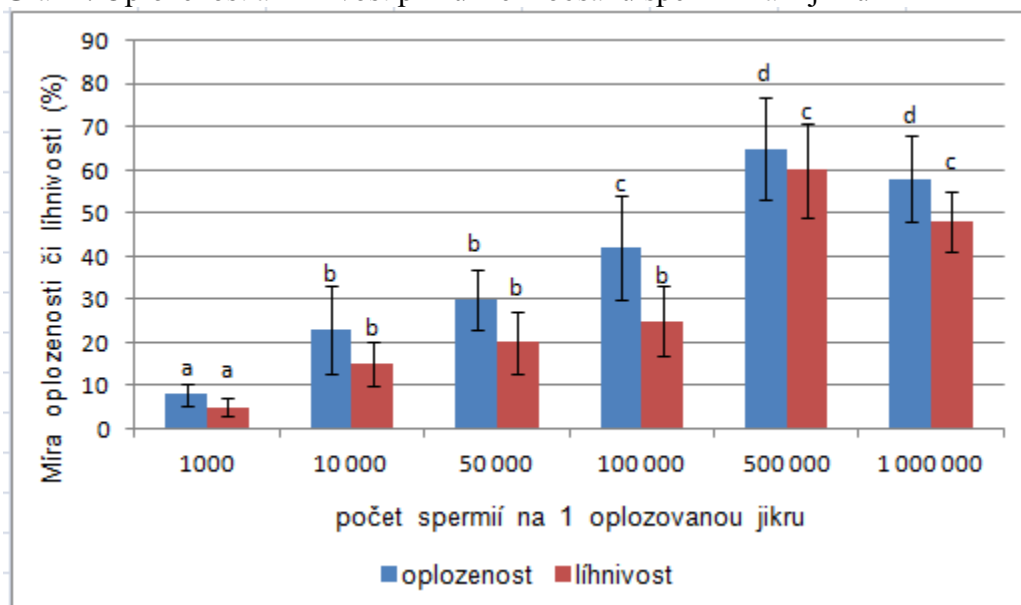
Ukazatel	Vlastnost/hodnota
Hustota	Řídká
Konzistence spermatu	Velmi řídká
Průměrný objem spermatu	$2,5 \pm 1,21$
Doba motility spermií (s)	do 30-45
Koncentrace spermií (miliardy.ml ⁻¹)	$18,54 \pm 7,5$



4.1.4. Optimalizace umělého oplodnění jiker - stanovení optimálního počtu spermii na jednu oplozovanou jikru při umělém oplozování jiker

V průběhu optimalizace umělého oplození vytřených jiker bylo díky nejvyšší stanovené oplozenosti jiker na úrovni 65 – 58 % a líhivosti larev (48 – 60 %) zjištěno, že nejlepším poměrem při oplozování jiker u štiky obecné je vyšší poměr spermii ku jedné jikře na úrovni 500 000 až 1 500 000 spermii (Graf 1). Lze konstatovat, že 1ml spermatu obsahující průměrně 18,54 miliardy spermii na 1 ml spermatu může být použit na oplození 12 300 – 36 500 ks jiker (102 - 307 gramů jiker). Toto platí u spermatu vytlačeného a odebraného od mlíčáků, které není výrazně kontaminováno močí.

Graf 1. Oplozenost a líhivost při různém obsahu spermii na 1 jikru



Rozdílná písmena u oplozenosti a líhivosti u jednotlivých poměrů spermii:jikře znamenají v rámci oplozenosti a líhivosti statistický rozdíl mezi jednotlivými testovanými poměry (ANOVA $P \leq 0,05$).

4.1.5. Celková oplozenost vytřených jiker a produkce larev z umělého výtěr

Po 4 dnech inkubace jiker byla zjištěna průměrná oplozenost jiker na úrovni $62,5 \pm 15\%$ a následně po 6 dnech (po 78 d^o) byla zjištěna průměrná líhivost na úrovni $55,3 \pm 7,8\%$. Celkem bylo vyprodukováno z této části projektu 1 050 000 vykulených larev, které byly následně využity pro další odchovy v rámci tohoto projektu.

4.1.6. Závěr a doporučení

Hormonální ošetření generačních jikernaček štiky obecné kapří hypofýzou v dávce 4 mg CP.kg⁻¹ je velmi efektivní způsob, jak dosáhnout synchronizovaného masového výtěru, při kterém se většina jikernaček vytírá za 4 dny po hormonální injikaci. V rámci této části projektu bylo zjištěno, že relativní plodnost generačních ryb štiky obecné se pohybuje na úrovni 36 tis. ks jiker.kg⁻¹, s průměrnou snůškou jiker na úrovni 300 gramů na 1 kg živé hmotnosti dané jikernačky a průměrným počtem jiker na 1 gram snůšky na úrovni 120 ks jiker.



Pro hormonální ošetření mlíčáků a jejich stimulaci k výtěru je možné zvolit poloviční dávku kapří hypofýzy na 1 kilogram živé hmotnosti ryb. Při takovémto ošetření v průměru 1 mlíčák vyprodukuje 2,5 ml řídkého spermatu, které obsahuje cca 18,5 miliard spermií na 1 mililitr. Doba motility spermií se pohybuje od 30 – 45 sekund v závislosti na kontaminaci spermatu močí. Snahou při odběru spermií musí být eliminovat kontaminaci spermií močí a následně k oplození jiker okamžitě použít odebrané sperma. Při oplozování jiker štiky obecné doporučujeme používat 500 000 – 1 000 000 ks spermií na jednu oplozovanou jikru, což představuje cca použít 1 mililitr spermatu na 100 – 300 gramů jiker.

4.2. Masový výtěr generačních ryb pomocí syntetických analogů v porovnání s kapří hypofýzou

4.2.1. Efektivita a doba latence u umělého výtěru hormonálně stimulovaného kapří hypofýzou

Ve skupině 1 (sGnRHa+MET+FIA), 3 (sGnRHa-FIA) a v kontrolní skupině nebyla zaznamenána žádná ovulovaná jikernačka v průběhu 9 dnů po provedené aplikaci hormonálních zásahů.

Čtvrtý den po hormonální injikaci (26. 3. 2012) došlo ve skupině 4 (CP) k ovulaci jiker u 7 jikernaček z celkového počtu 7. V průběhu jednoho dne tedy došlo k výtěru všech 100% jikernaček. Ve skupině 5 (CP-FIA) ovulovalo čtvrtý den po hormonální injikaci 5 ze 7 jikernaček, tedy 71,4 %. Stejný den ve skupině 2 (sGnRHa+MET) ovulovala 1 jikernačka z celkového počtu 7 jikernaček (Tab. 6).

Pátý den po hormonální injikaci došlo k výtěru jedné jikernačky ve skupině 5 (CP-FIA) a poslední ovulace v této skupině byla zaznamenána šestý den po hormonální injikaci, kdy v této době 100% jikernaček z této skupiny dosáhlo ovulace jiker. Efektivitu výtěru (procento ovulovaných jikernaček) a délku latence znázorňuje Tab. 6.

Tab. 6. Procento ovulovaných jikernaček a doba latence u umělého výtěru generačních ryb štiky obecné při použité různé hormonální injikaci

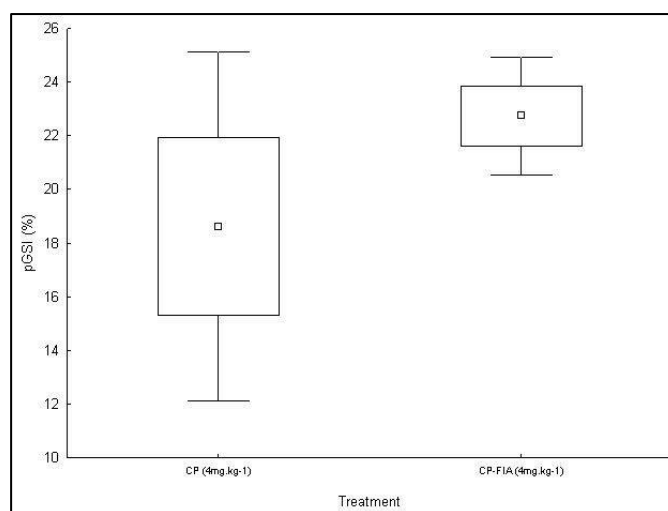
Skupina	Procento ovulovaných jikernaček (%)	Doba latence (h)
Skupina 1 (sGnRHa+MET+FIA)	0	-
Skupina 2 (sGnRHa+MET)	14,3	97,5 ± 0
Skupina 3 (sGnRHa-FIA)	0	-
Skupina 4 (CP)	100	98,2 ± 2,5
Skupina 5 (CP-FIA)	100	107,9 ± 10,3
Skupina 6 (kontrola – NaCl)	0	-



4.2.2. Plodnost jikernaček, přežití do očních bodů, pH ovariální plasmy a líhivost

Hodnota pGSI se mezi jednotlivými skupinami průkazně nelišila ($P > 0,05$). Nicméně hodnota pGSI byla u jikernaček skupiny 5 (CP-FIA) mnohem vyrovnanější než u skupiny 4 (CP). Průměrné hodnoty pGSI dosáhly úrovně ve skupině 4 (CP) $18,62 \pm 8,76\%$ a ve skupině 5 (CP-FIA) $22,74 \pm 2,75\%$. Hodnota pGSI u jedné ovulované jikernačky ze skupiny 2 (sGnRH_a+MET) dosáhla hodnoty 20,5% (Graf 2).

Graf 2: Pseudogonadosomatický index u jednotlivých skupin jikernaček různě hormonálně ošetřených.



Souhrnné informace o absolutní a relativní plodnosti, průměrné hmotnosti jiker a počtu jiker na 1 gram jsou znázorněny v Tab. 7. Statisticky největší absolutní a relativní plodnost byla zjištěna u skupiny 5 (CP-FIA), kde současně byla zjištěna také statisticky nejnižší hmotnost jiker a tím nejvyšší počet jiker na 1 gram. Rozdílná hmotnost jiker u skupiny 5 vůči skupinám 2 (sGnRH_a+MET) a 3 (CP) byl pravděpodobně nejvýznamnější důvod, proč byla u těchto skupin zjištěna statisticky rozdílná plodnost.



Tab. 7. Absolutní a relativní plodnost, průměrná hmotnost jiker a počet jiker na 1 gram snůšky u vytřených jikernaček, které byly ošetřeny různou hormonální stimulací.

Ukazatel	Skupina 2 (sGnRHa+MET)	Skupina 4 (CP)	Skupina 5 (CP-FIA)
Plodnost jikernaček absolutní (počet jiker. jikernačka ⁻¹)	127 305 a	117 340 a	150 310 b
Absolutní hmotnost jiker na 1 jikernačku (g)	943 ± 0 a	856,5 ± 402,9 a	1046,0 ±126,5 b
Plodnost jikernaček relativní (počet jiker.kg ⁻¹)	27 675 a	25 509 a	32 676 b
Relativní hmotnost jiker na 1 kg jikernačky (g)	205,0 a	186,2 a	227,4 a
Průměrná hmotnost jikry (mg)	7,4± 0,38 b	7,3± 0,58 b	7,04±0,59 a
Počet jiker v 1 gramu (ks)	135,0±7,9 a	137±12,8 a	143,7±12,8 b

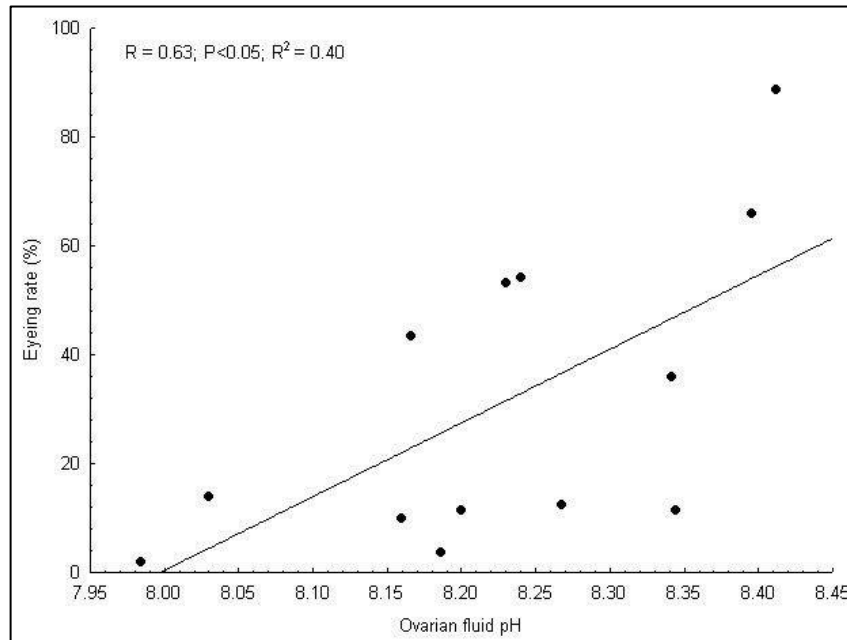
Rozdílná písmena u jednotlivých ukazatelů v rámci jednotlivých skupin znamenají v rámci jednoho řádku statistický rozdíl v daných hodnotách mezi jednotlivými skupinami ryb (ANOVA $P \leq 0,05$).

Zjištěné hodnoty pH ovariální plazmy byly u jednotlivých jikernaček z jednotlivých skupin statisticky rozdílné, kdy nejvyšší pH ovariální plasmy bylo u skupiny 2 (sGnRHa+MET) $pH = 8,35$, následně u skupiny 5 (CP-FIA) $pH = 8,24 \pm 0,02$ a nejnižší pH bylo zjištěno u skupiny 4 (CP) $pH = 8,11 \pm 0,02$.

Přežití do očních bodů bylo relativně nízké ve dvou testovaných skupinách 4 (CP) a 5 (CP-FIA) a mezi těmito dvěma metodami hormonálního ošetření nebyl zjištěn signifikantní rozdíl ($P > 0,05$). Procento přežití do očních bodů dosáhlo u jikernaček ve skupině 4 (CP) $27,51 \pm 0,97\%$, ve skupině 5 (CP-FIA) $25,4 \pm 1,05\%$. Podle očekávání byly v přežití do očních bodů mezi jednotlivými jikernačkami nalezeny výrazné signifikantní rozdíly ($P < 0,05$). Nejnižší hodnoty přežití se u hormonálně ošetřených jikernaček pohybovaly okolo $2,01 \pm 2,57\%$, zatímco nejvyšší hodnoty byly $65,87 \pm 2,57\%$. Ve skupině 2 (sGnRHa+MET), kde ovulovala pouze jedna jikernačka, bylo dosaženo nejvyšších hodnot přežití do očních bodů a to $88,56 \pm 0,50\%$. Lineární regresní analýza odhalila pozitivní vztah mezi pH ovariální plasmy a přežitím do očních bodů ($R = 0,63$; $P < 0,05$; $R^2 = 0,40$) (Graf 3).



Graf 3: Lineární regresní analýza vztahu mezi hodnotou pH ovariální plasmy a přežití do očních bodů.

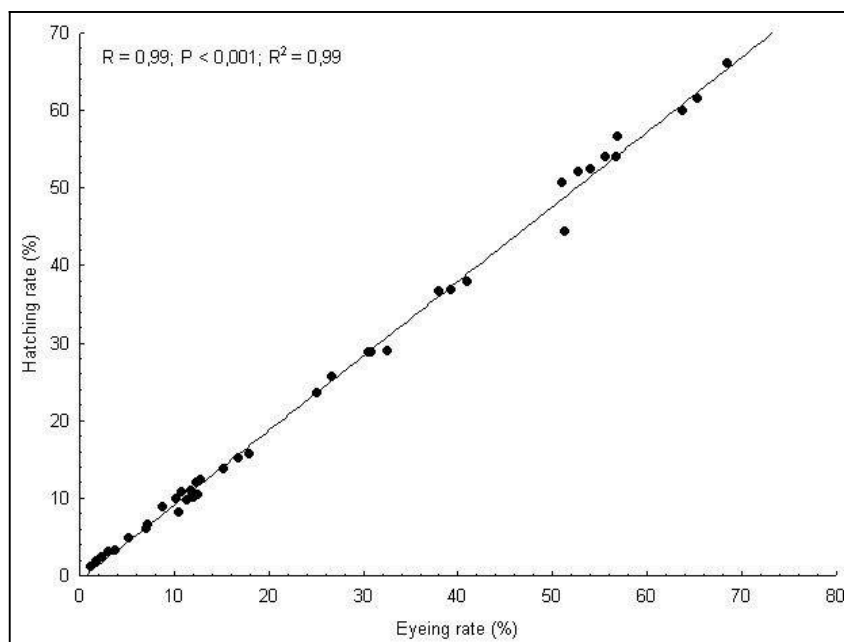


Frekvence výskytu SES (podíl larev s výskytem malých očních bodů) se mezi skupinami ryb statisticky nelišila ($P > 0,05$). Ve skupině 4 (CP) byl SES nalezen u $1,46 \pm 0,51\%$ a ve skupině 5 (CP-FIA) u $1,60 \pm 0,55\%$ a ve skupině 2 (sGnRHa+MET) u $1,65 \pm 0,52\%$ z celkového počtu jiker v očních bodech. Frekvence SES se u jednotlivých jikernaček pohybovala od 0,00– $3,73 \pm 1,33\%$ z počtu jiker v očních bodech.

Líhivost se vyvíjela přesně podle hodnot přežití do očních bodů. Hodnoty líhivosti nebyly mezi skupinou 4 a 5 statisticky rozdílné ($P > 0,01$). Ve skupině 4 (CP) byla líhivost $25,86 \pm 1,01\%$. U jikernaček ve skupině 5 (CP-FIA) dosáhla hodnota líhivosti $24,08 \pm 1,09\%$. Naopak ve skupině 2 (sGnRHa+MET) byla zjištěna statisticky nejvyšší líhivost na úrovni 65,5%. Lineární regresní analýzou byl zjištěn velmi těsný pozitivní vztah mezi přežitím do očních bodů a líhivostí ($R = 0,99$; $P < 0,001$; $R^2 = 0,99$) (viz Graf 4).



Graf 4: Lineární regresní analýza vztahu mezi přežitím do očních bodů a líhivostí.



Procento nevykulených jiker bylo nejnižší u jikernačky ze skupiny 2 (sGnRHa+MET) 4,5%, nepatrně nižší u jikernaček ve skupině 4 ($CP = 5,75 \pm 0,98\%$) oproti jikernačkám ve skupině 5 ($CP-FIA = 7,27 \pm 1,06\%$). Avšak mezi těmito hodnotami nebyl nalezen žádný signifikantní rozdíl ($P > 0,05$).

Nižší přežití embryí a nižší líhivost, která byla zaznamenána v této části projektu mohla být především způsobena většími rybami, které byly použity v této části, oproti první části projektu.

4.2.3. Závěr a doporučení

Podle procenta vytřených ryb z různých skupin můžeme konstatovat, že pouze použití kapří hypofýzy je bezpečným a ověřeným hormonálním prostředkem, jak je možné dosáhnout synchronizovaného a masového výtěru generačních jikernaček. Jikernačky se při použití kapří hypofýzy vytírají za 4-5 dní po hormonálním ošetření a většina ryb se vytírá v průběhu 24 -36 hodin. Plodnost ryb je závislá na velikosti jikernaček, kdy relativní plodnost se pohybuje na úrovni 25-32 tis. kusů jiker. kg^{-1} či 186-227 gramů jiker. kg^{-1} s průměrným počtem jiker na 1 gram snůšky na hodnotě 135 -143 jiker.

Podle získaných zkušeností nedoporučujeme pro výtěr štiky obecné používat starší a extrémně velké generační ryby o hmotnosti 4,5 a více kilogramů. Oplozenost jiker, přežití embryí do očních bodů a líhivost je výrazně u štiky obecné ovlivněna individualitou generačních ryb, kdy byly zaznamenány poměrně odlišné hodnoty zmíněných parametrů. pH ovariální plazmy pozitivně ovlivňuje přežití embryí a platí, že čím vyšší pH ovariální plazmy, tím vyšší přežití.



4.3. Masový výtěr generačních ryb bez hormonální stimulace

4.3.1. Průběh výtěru generačních jikernaček a jejich plodnost

V průběhu poměrně dlouhého období od 22. 3. 2012 do 20. 4. 2012 bylo celkem vytřeno 38 ks (95%) použitých generační jikernaček. To znamená, že výtěru generačních ryb je možné dosáhnout bez hormonální injekce generačních jikernaček avšak výtěrové období je velmi dlouhé a výtěry ryb jsou nesynchronizované a rozvleklé. Absolutní plodnost jedné jikernačky se v rámci jednotlivých výtěrů pohyboval od 13,7 tisíc jiker až do 39,2 tisíc jiker (viz Tab. 8.).

Tab. 8. Průběh výtěru generačních jikernaček bez hormonální stimulace, plodnost jikernaček a míra líhivosti.

Datum výtěru	Počet vytřených ryb (ks)	Kumulativní procento vytřených ryb (%)	Absolutní plodnost (počet jiker na jednu jikernačku) (ks)
22.3.2012	9	22,5	20 000
25.3.2012	10	47,5	18 947
28.3.2012	7	65,0	13 714
3.4.2012	2	70,0	18 857
10.4.2012	5	82,5	39 228
18.4.2012	2	87,5	37 457
20.4.2012	3	95,0	36 466

4.3.2. Inkubace jiker, líhnutí a rozplavání larev

Inkubace jiker pocházejících z jednotlivých výtěrů probíhala od 22. 3. 2012 do 28. 4. 2012. Inkubace jiker pocházejících z prvních výtěrů probíhala 12 dní při teplotě vody 10°C a inkubace jiker z pozdějších výtěrů trvala 8 dní při teplotě vody 12°C. Délka inkubace jiker probíhala od 83,3 d° až po 118,8 d° v závislosti na teplotě vody (Tab. 9).

Na konci inkubace byla zjištěná poměrně velmi vysoká a vyrovnaná líhivost larev (52,1 – 69,4%) z výtěrů realizovaných od 22. 3. po 3. 4. 2012. Nižší líhivost (11,5 – 41,8%) byla sledována při pozdějším výtěru generační jikernaček v období od 10. 4. do 20. 4. 2012,



což je zřejmě spojené s nižší kvalitou gamet u ryb vytírající se na konci výtěrového období (Tab. 9).

Tab. 9. Průběh výtěru generačních jikernaček bez hormonální stimulace, plodnost jikernaček a míra líhivosti.

Datum výtěru	Teplota vody při inkubaci (°C)	Délka inkubace (°d)	Datum líhnutí	Líhivost (%)
22.3.2012	9,9±0,5	118,8	4.4.2012	57,7
25.3.2012	10,1±0,6	111,1	5.4.2012	69,4
28.3.2012	10,4±0,6	104,0	8.4.2012	52,1
3.4.2012	10,4±0,7	104,0	13.4.2012	56,8
10.4.2012	11,5±0,8	92,0	19.4.2012	41,8
18.4.2012	11,9±0,8	83,3	25.4.2012	31,8
20.4.2012	12,2±1,2	97,6	28.4.2012	11,5

4.3.3. Závěr a doporučení

Výtěr generačních ryb štiky obecné bez hormonální stimulace způsobuje nesynchronizované a rozvleklé období výtěru, při kterém je nutné ryby vytírat až několikrát za výtěrové období. To způsobuje produkci různě starých larev, což může být určitou komplikací při dalším odchovu rychleného či staršího plůdku v rybnících. V průběhu této části projektu se velmi dobře osvědčilo využívat pro umělé oplození jiker štiky obecné směsi testikulárního a vytlačeného spermatu v celkové dávce 2 ml spermatu na 300 gramů jiker. Dále se velmi dobře osvědčilo inkubovat štičí jikry ve speciálně upravených Zugských lahvích, kdy v rámci této části výtěru bylo dosaženo poměrně slušné líhivosti na úrovni 52 – 69%.



4.4. Odchov štiky obecné v rybnících do stádia rychleného plůdku

4.4.1. Vyhodnocení růstu a přežití juvenilních ryb štiky obecné do stádia rychleného plůdku

V průběhu a na konci odchovu rychleného plůdku v rybnících byla zaznamenána vysoká rychlost růstu (SGR), která je typická pro larvy a juvenilní ryby štiky obecné v rozmezí od 30 do 22,5%.d⁻¹. Nejnižší rychlosti růstu 22,5 %.d⁻¹ bylo zaznamenáno u ryb odchovávaných v rybníce Kamenný a to z toho důvodu, že ryby byly odchovávané po delší dobu odchovu a to po dobu 28 dní. Rybník Kamenný měl velký nutriční potenciál a v celém období odchovu byl v rybníce masově přítomen hrubý zooplankton, proto byl odchov juvenilních štik v tomto rybníce prodloužen až na 28 dní. Na konci tohoto odchovu byly z rybníku Kamenný loveny ryby o TL= 85,1 mm. U ostatních rybníků byl loven klasický rychlený plůdek štiky obecné o velikosti TL= 40,2 – 45,5 mm (Tab. 10).

Co se týče přežití odchovávaných ryb, tak přežití v jednotlivých rybnících se stejnou délkou odchovu (15 dní) bylo poměrně vyrovnané od 15% do 30%. Menší experimentální rybníky s vyšší hustotou odchovávaných larev dosáhly přežití na úrovni 20 – 30%. Větší rybníky, kde byla využita nižší hustota odchovávaných ryb, poskytly přežití ryb na úrovni 15-20%. Zvláštním případem přežití na úrovni 7,3% bylo přežití ryb v rybníku Kamenný, u kterého byl odchov juvenilní štiky obecné protažen až na 28 dní (dvojnásobně delší odchov než u jiných rybníků) (Tab. 10). Nižší přežití ryb v rybníku Kamenný bylo především způsobeno kanibalismem ryb, který při delším odchovu v rybníku probíhal, protože štikám již plně hrubý plankton potravně nepostačoval. Na tomto příkladu je dobře patrné, jak pozdní termín výlovu může negativně ovlivnit úspěšnost odchovu juvenilních ryb štiky obecné. Je velmi důležité odchov rychleného plůdku v rybnících ukončit ještě před plným propuknutím kanibalismu mezi odchovávanými rybami.

Tab. 10. Velikost a přežití rychleného plůdku na konci odchovu a vypočítaná SGR za celý odchov v rybnících

Rybník	Počáteční		Konečná		Délka odchovu (dny)	SGR (%.d-1)	Nasazeno (ks)	Sloveno	
	TL (mm)	W (mg)	TL (mm)	W (mg)				(ks)	%
Kamenný	10,5±0,08 A	9,1±0,08 A	85,1± 27,2 C	4900± 1250 C	28	22,5	150 000	11 000	7,3
Bejkovna	10,5±0,08 A	9,1±0,08 A	44,9±23,8 B	720±348 B	15	29,1	133 000	26 000	20
Srnec	10,5±0,08 A	9,1±0,08 A	40,2±18,6 A	535±168 A	15	27,2	114 000	17 100	15
Exp. rybník 64	13,5±0,09 A	9,85±0,06 A	40,5±21,0 A	487±155 A	15	26,0	48 000	12 000	25
Exp. rybník 65	13,5±0,09 A	9,85±0,06 A	42,5±19,5 A	659±234 A	15	28,0	48 000	14 500	30
Exp. rybník 66	13,5±0,09 A	9,85±0,06 A	45,5±25,3 B	895±421 B	15	30,0	48 000	9 600	20

Rozdílná písmena u TL a W na konci odchovu rychleného plůdku znamenají v rámci daného sloupce statistický rozdíl v hodnotách TL a W mezi jednotlivými použitými rybníky (ANOVA P ≤ 0,05).



4.4.2. Závěr a doporučení

Pro chov rychleného plůdku štiky obecné doporučujeme spíše využívat menší rybníky s větší břehovou linií, s více členitým břehem, což umožňuje nasazovat a chovat larvy a juvenilní ryby při vyšších hustotách. Velmi důležitá je podpora výskytu hrubého zooplanktonu v rybníce, kdy tato složka je hlavní potravou larev a juvenilních ryb do velikosti TL=30 – 35 mm. V průběhu odchovu je důležité sledovat množství vyskytujícího se zooplanktonu v rybnících a při jeho poklesu ihned začít s výlovem rychleného plůdku. Jestliže se bude s termínem výlovu extrémně otálet, může se stát, že se výrazným způsobem projeví kanibalismus mezi odchovávanými rybami a efektivita odchovu bude velmi nízká. Doporučujeme také rychlený plůdek štiky obecné v rybnících v monokultuře odchovávat maximálně do velikosti TL= 40 – 45 mm, protože starší věkové kategorie přechází na piscivorní způsob výživy a mezi odchovávanými rybami dochází k extrémnímu kanibalismu, což výrazným způsobem snižuje efektivitu chovu.

4.6. Využití rychleného plůdku při odchovu juvenilních štiky v rybnících do konce 1. vegetačního období

4.6.1. Růst ryb

V průběhu odchovu starších věkových kategorií bylo velmi obtížné ryby v průběhu odchovu odlovit pomocí sítí. Proto odchov byl vyhodnocen především podle počtu, přežití a růstu slovených ryb při výlovu rybníků. Velikost, růst (SGR) a přežití odchovaných ryb je sumarizována v Tab. 11. Z výsledků vyplývá, že v průběhu 185 – 192 denního odchovu ryby dosahovaly růstu na úrovni 1,93 – 2,21%.d⁻¹. Při výlovu byly loveny ryby, které dosahovaly TL od 170 – 221 mm. Statisticky nejnižší růst byl zjištěn u rybníku Smolek naopak nejvyšší růst byl zaznamenán u rybníku Dobrý.

4.6.2. Přežití odchovávaných ryb

Co se týče přežití odchovávaných ryb, tak přežití bylo velmi variabilní a závislé především na daném rybníku a pohybovalo se od 4,2 – 30%. Přežití bylo především také ovlivněno potravní nabídkou rybníků, kdy byl v průběhu odchovu kontrolními odlovy zjištěn vysoký výskyt plevelných ryb jen v rybníku Hospodář, který disponoval právě nejvyšším a velmi dobrým přežitím juvenilních ryb štiky obecné (30%). Naopak v ostatních rybnících nebyly plevelné ryby v průběhu odchovu patrné a to především asi způsobilo nízké přežití odchovávaných starších kategorií štiky obecné na úrovni 4,2 – 18,3%.

Při výlovu ryb jsme mohli konstatovat, že ani v jednom rybníku nebyla nadměrně rozvinutá populace plevelných ryb, což především u rybníku Hospodář svědčilo o pozitivním vlivu štiky obecné na eliminaci plevelných druhů ryb v rybníce.



Tab. 11. Velikost a přežití rychleného plůdku na konci odchovu a vypočítaná SGR za celý odchov v rybnících

Rybník	Počáteční		Konečná		Délka odchovu (dny)	SGR (%.d ⁻¹)	Nasazeno (ks)	Sloveno	
	TL (mm)	W (g)	TL (mm)	W (g)				(ks)	%
Dobry	44,9±23,8 A	0,72±0,35 A	221,0± 56,5 D	50,2± 21,3 D	192	2,21	4 000	168	4,2
Jan	44,9±23,8 A	0,72±0,35 A	200,9±43,8 C	45,2±20,8 C	192	2,16	4 000	252	6,3
Hospodář	44,9±23,8 A	0,72±0,35 A	186,5±68,6 B	39,6±16,8 B	185	2,17	2 400	720	30
Smolek	44,9±23,8 A	0,72±0,35 A	170,5±41,0 A	29,3487±14,2 A	192	1,93	2 900	130	4,5
Praseto velké	44,9±23,8 A	0,72±0,35 A	220,6±38,5 C	48,6±18,6 C	192	2,19	1 200	220	18,3

Rozdílná písmena u TL a W na konci odchovu rychleného plůdku znamenají v rámci daného sloupce statistický rozdíl v hodnotách TL a W mezi jednotlivými použitými rybníky (ANOVA $P \leq 0,05$).

4.6.3. Závěr a doporučení

Rychlený plůdek štiky obecné vřele doporučujeme nasazovat do produkčních rybníků, kde se chová násadový materiál kapra obecného, protože starší věkové kategorie juvenilní štiky obecné eliminují výskyt plevelných druhů ryb, čímž zvyšují produkci samotného kapra. Jestliže je vysazován rychlený plůdek do produkčních rybníků, doporučujeme plůdek vysazovat po jedincích do litorálních porostů či partií daného rybníka. Štika obecná se stanovištní rybou a je velmi důležité ryby při vysazení rozptýlit po celém obvodu daného rybníka.



5. Přílohy



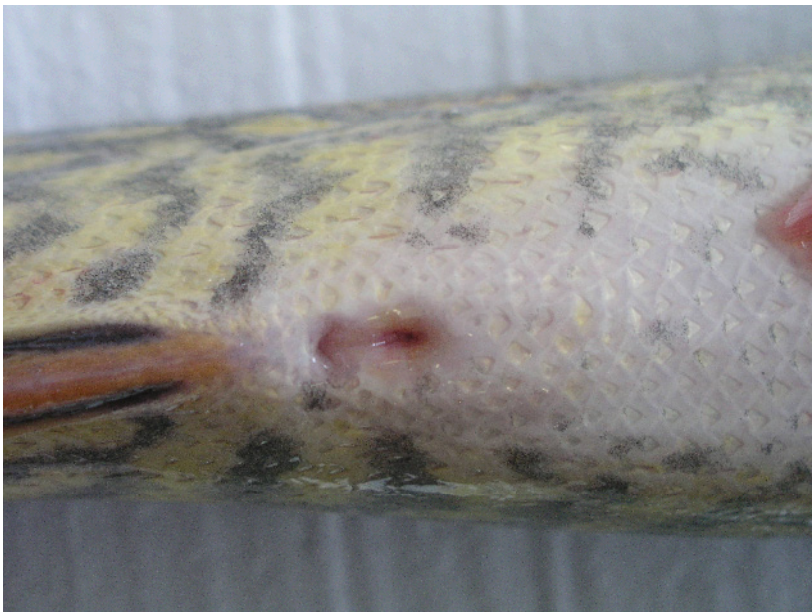
Obr. 1: Generační jikernačka v anestezií.



Obr. 2: Hormonální injekce generační ryby.



Obr. 3: Urogenitální papila generační jikernačky.



Obr. 4: Urogenitální papila generačního mlíčka.



Obr. 5: Ovulující generační jikernačka připravená na umělý výtěr.



Obr. 6: Umělý výtěr generační jikernačky.



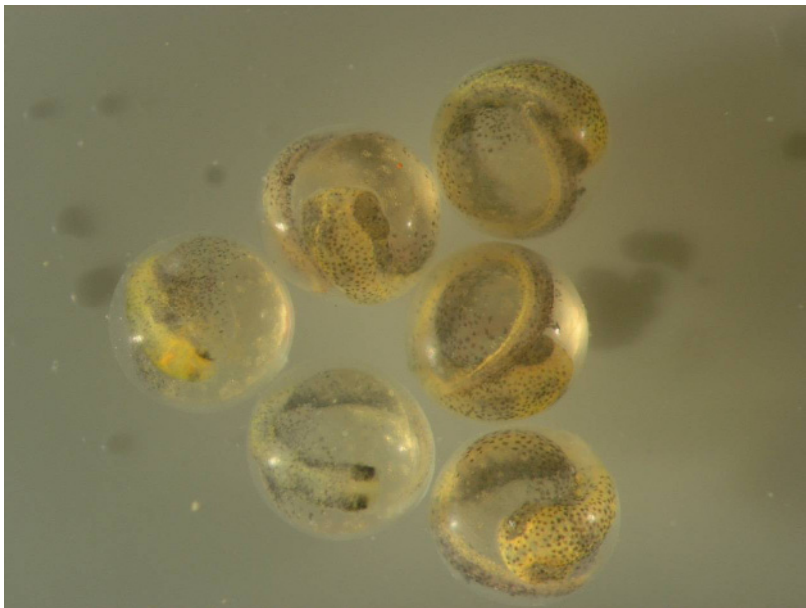
Obr. 7: Generační jikernačka po umělém výtěru v koupeli manganistanu draselném proti zaplísnění.



Obr. 8: Umělá inkubace jiker ve speciálně upravených Zugských lahví.



Obr. 9: Inkubace vzorků jiker v miniaturních Rückel-Vackových aparátech.



Obr. 10: Jikry v očních bodech pocházející od stejné jikernačky. Na pravé straně jsou dobře vidět 4 normálně vyvinutá embrya v porovnání s dvěma embryi se syndromem malých očních bodů.



Obr. 11: Odlovený rychlený plůdek z rybníku Kamenný.



Obr. 12: Odlov rychleného plůdku pod hrází rybníka