



Umělý výtěr lína obecného

J. Kouřil a P. Podhorec



FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Umělý výtěr lína obecného

J. Kouřil a P. Podhorec

**VYDÁNÍ A TISK PUBLIKACE BYLO USKUTEČNĚNO
ZA FINANČNÍ PODPORY PROJEKTU OP RYBÁŘSTVÍ:**

Příprava a vydání metodických publikací v roce 2011

(CZ.1.25/3.1.00/11.00301)



**EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
*„Investice do udržitelného rybolovu“***

**OBSAHOVÁ ČÁST PUBLIKACE BYLA ZPRACOVÁNA
ZA FINANČNÍ PODPORY NÁSLEDUJÍCÍCH PROJEKTŮ:**

Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz – CENAKVA

(CZ.1.05/2.1.00/01.0024)

Chovatelské a environmentální aspekty akvakultury a hydrocenóz

(GA JU 047/2010/Z)

***Optimalizace metod hormonálně indukovaného umělého výtěr jikernaček
hospodářsky významných druhů ryb***

(QH91310, NAZV, MZe ČR)

***Environmentálně a hormonálně indukovaná reprodukce, anestézie, raný ontogenetický vývoj
a odchov hospodářsky významných druhů ryb***

(ME10126, KONTAKT, MŠMT ČR)



ISBN 978-80-87437-31-5

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| 1. ÚVOD DO PROBLÉMU | 6 |
| 2. CÍL | 7 |
| 3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE UMĚLÉHO VÝTĚRU JIKERNAČEK LÍNA | 7 |
| 4. POPIS VÝROBNÍHO POSTUPU A VÝSLEDKY UMĚLÉHO VÝTĚRU JIKERNAČEK LÍNA | 8 |
| 4.1. Hormonální stimulace jikernaček lína | 8 |
| 4.2. Umělý výtěr mlíčáků lína | 11 |
| 4.3. Umělý výtěr jikernaček lína | 12 |
| 4.3.1. Umělý výtěr jikernaček lína s indukcí ovulace pomocí tří různých GnRHa, inhibitoru dopaminu a při kombinovaném podání GnRHa a inhibitoru dopaminu | 12 |
| 4.3.2. Umělý výtěr jikernaček lína s indukcí ovulace pomocí různých dávek GnRHa | 14 |
| 4.3.3. Umělý výtěr jikernaček lína při třech různých teplotách a použití kapří hypofýzy, GnRHa a kombinovaném podání GnRHa a inhibitoru dopaminu | 16 |
| 4.3.4. Umělý výtěr jikernaček lína s indukcí ovulace pomocí různých komerčně vyráběných hormonálních přípravků obsahujících GnRHa, resp. Gn RHa a inhibitor dopaminu | 19 |
| 5. OSEMENĚNÍ, ODLEPOVÁNÍ JIKER A INKUBACE JIKER A PŘECHOVÁVÁNÍ VÁČKOVÉHO PLŮDKU | 21 |
| 6. CELKOVÉ SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ | 22 |
| 7. EKONOMICKÝ PŘÍNOS VÝROBNÍHO POSTUPU PRO PODNIKATELSKÝ SUBJEKT | 22 |
| 8. UPLATNĚNÍ VÝROBNÍHO POSTUPU V PRODUKCI PODNIKATELSKÉHO SUBJEKTU | 23 |
| 9. SEZNAM LITERATURY | 23 |

1. ÚVOD DO PROBLÉMU

Lín obecný (*Tinca tinca* L.) je fytofilní druh ryby z čeledi kaprovitých (Cyprinidae). Vyskytuje se ve vodách většiny zemí Evropy a v některých částech Asie. Je významnou součástí rybníčních monokultur (Španělsko, Itálie) nebo polykultur (Česká republika, Polsko a Německo) v Evropě (Steffens, 1995). Přirozený výtěr lína probíhá obvykle ve třech dílčích dávkách od května do srpna, při teplotách vody nad 19 °C s optimem v rozpětí 21–23 °C (Pokorný, 1974). Z hlediska akvakulturní produkce je přirozený výtěr lína ve výtěrových rybnících obtížně plánovatelný a značně nespolehlivý (např. vysoká variabilita v množství a velikosti produkovaného plůdku). Naproti tomu je řízené rozmnožování lína cestou k získání odpovídajícího množství nasadového materiálu od známých rodičů, v evidovaném počtu a v optimálním čase. Jedním z hlavních problémů řízeného rozmnožování lína je jeho neschopnost dosáhnout spontánní ovulace v kontrolovaných podmínkách rybí líhně. Primární příčinou této reprodukční dysfunkce je nedostatečnost některých environmentálních faktorů (např. výtěrový substrát), nezbytných k pozitivní stimulaci neuroendokrinní regulace finálních stadií gametogeneze (Yaron, 2009). Za účelem odstranění této reprodukční dysfunkce se při umělém výtěru provádí hormonální stimulace ovulace a spermiace buď s pomocí aplikace kapří hypofýzy, nebo syntetického analogu spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRH_a).

První umělý výtěr jikernaček lína uskutečnil v Německu u ryb odlovených při spontánním výtěru v přírodních podmínkách Probst (1938). Podobným způsobem úspěšně vytíral líny i Kopáček (1959). První úspěšný hormonálně indukovaný umělý výtěr lína realizoval v Československu Pokorný (1974). Použití této metody v masovém měřítku popsali Kouřil a Chábera (1976) a Hamáčková a kol. (1978). Další informace o hormonálně indukovaném umělém výtěru lína pomocí kapří hypofýzy uvádí Horváth (1977). Ve všech uvedených případech byly používány vysoké dávky kapří hypofýzy v rozpětí 5–15 (někdy dokonce až 30) mg.kg⁻¹, injikovaných intramuskulárně ve fyziologickém roztoku v jedné dávce, v některých případech ve dvou a v případě prvních pokusů Pokorného (1974 a, b) i ve třech dílčích dávkách. Amaral a kol. (1995) uvádí možnost indukce ovulace jikernaček lína pomocí extraktu kuřecí hypofýzy a hCG. Starší postupy založené na umělé reprodukci s využitím kapří hypofýzy se ukázaly jako ne vždy úspěšné s nízkým procentem (≥ 50) ovulujících jikernaček a malou pracovní plodností jikernaček (Kouril, 1998). Aplikace syntetických GnRH analogů (GnRH_a) v protikladu k aplikaci kapří hypofýzy umožňuje přímou stimulaci gonadotropních buněk, sekretujících rybímu tělu vlastní luteinizační hormon (LH). Navíc postavení samotného GnRH v hormonální kaskádě umožňuje komplexnější nápravu reprodukční dysfunkce v podobě stimulace nejen LH, ale i sekrece spolupůsobících faktorů, jako je růstový hormon, prolaktin a nebo thyroidní hormony (Zohar a Mylonas, 2001). Jako první prokázali vysokou účinnost přípravků GnRH_a indukovat ovulaci u lína Kouřil a kol. (1986), když i dávky na úrovni 1–10 μg kg⁻¹ stimulovaly ovulaci u většiny ošetřených jikerna-

ček. Touto specifickou vlastností se lín odlišuje od jiných kaprovitých druhů ryb. Podrobné přehledy zaměřené na chov lína, včetně jeho reprodukce, publikovali Pokorný (1974), Lukowich a Proske (1979), Kubů a Kouřil (1985), Kouřil a kol. (1986), Steffens (1995). Přehled dat o biologii gamet lína uvádí Linhart a Billard (1995). Kouřil a kol. (2007) zjistili u jikernaček lína rozdíly v biochemickém profilu krevního séra v průběhu intervalu latence (od injekce hormonálních přípravků do dosažení ovulace). Podhorec a kol. (2011a, b, c) popisuje změny v hladinách LH u jikernaček lína při použití různých hormonálních přípravků, které indukují ovulaci při různých teplotách v průběhu intervalu latence.

U lína bylo při hormonální indukci ovulace pomocí GnRH zjištěno zvýšené množství vytřených jiker ve srovnání s použitím hypofýzy (Kouřil a kol., 1981). Později byla u tohoto druhu ověřena možnost indukce ovulace a umělého výtěru jikernaček pomocí superaktivních analogů GnRH (Kouřil a kol., 1986, Hamáčková a kol., 1999). Jejich výhodou při umělém výtěru u lína je možnost minimalizace účinných dávek (na úroveň 1–20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) při současném zvýšení % ovulujících a úspěšně vytřených jikernaček (Kouřil a kol., 1986), čímž dojde ke zlevnění nákladů na aplikaci v provozních měřících. Další podrobnosti vývoje metod hormonální indukce ovulace u lína uvádí v přehledové studii Kouřil (1998).

2. CÍL

Cílem zpracování předložené technologie bylo realizovat, popsat a v praxi ověřit optimalizovanou metodu hormonální indukce ovulace u lína, a to pomocí syntetických GnRHa s použitím, nebo bez použití inhibitorů dopaminu, včetně dávkování. Dalším cílem bylo zpřesnit závislost vlivu teploty na délku intervalu latence (časového intervalu od injekce do ovulace). V průběhu umělé reprodukce byla sledována efektivita (úspěšnost) dosažení ovulace a provedení umělého výtěru, délka intervalu latence a plodnost jikernaček. Dosažené výsledky umožní lépe organizovat práci na rybích líhních a předcházet případným ztrátám na jikrách vzhledem k dřívější ovulaci. Technologie umožní lépe využívat metodu umělé reprodukce i při využívání dalších specifických metod (např. produkce monosexních nebo polyploidních obsádek).

3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE UMĚLÉHO VÝTĚŘU JIKERNAČEK LÍNA

Předložená technologie popisuje postup, který byl ověřován na experimentálním objektu Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity (FROV JU) ve Vodňanech (obr. 1) a na rybí líhni Mydlovary, Rybníkářství Hluboká nad Vltavou, s.r.o. (obr. 2). Od poloviny roku 2011 je rybí líheň Mydlovary součástí rybářské divize firmy BaHa s.r.o. České Budějovice. Ověřování probíhalo v průběhu let 2005–2011.



Obr. 1. a 2. Experimentální hala a venkovní žlabovna VÚRH JU ve Vodňanech a Rybí líheň Rybníkářství Hluboká s.r.o. (exteriér).

4. POPIS VÝROBNÍHO POSTUPU A VÝSLEDKY UMĚLÉHO VÝTĚRU JIKERNAČEK LÍNA

4.1. Hormonální stimulace jikernaček lína

Metodika

Při výlovu a transportu generačních ryb na líheň byly v co největší možné míře eliminovány stresové faktory v podobě nadbytečné manipulace, přidušení nebo poškození generačních ryb. Po transportu na líheň byly jikernačky rozděleny podle připravenosti k výtěru na základě posouzení měkkosti břišních partií. Vyřazeny byly výjimečně se vyskytující jikernačky, u kterých byla zjištěna spontánní ovulace (jejich umělý výtěr a následné osemenění a inkubace jiker zpravidla nevedou k úspěchu s ohledem na relativně rychlou ztrátu schopnosti oplození u ovulovaných jiker) a jikernačky nedostatečně naplněné jikrami (oocyty).

Injekční aplikace hormonálních přípravků generačním rybám, a následně i jejich umělý výtěr, probíhaly zásadně v anestezii. K anestezii lína byly používány přípravky 2-fenoxyethanol a hřebíčkový olej (Kolářová a kol., 2007, Hamáčková a kol., 2004). Preparát 2-fenoxyethanol byl používán v koncentraci 0,4 ml.l⁻¹, hřebíčkový olej v koncentraci 0,04 ml.l⁻¹. Anestezie byla prováděna v kádích nebo ve vaničkách s příslušným roztokem anestetika (obr. 3). Při zjišťování biometrických parametrů, hmotnosti a posuzování vhodnosti anestetizovaných jikernaček (předem označených vnitrosvalovými elektronickými značkami) k umělému výtěru probíhala současně jejich individuální identifikace s využitím skeneru a s ním propojeného počítače (obr. 4 a 5).



Obr. 3. Jikernačky lína před anestezíí (vlevo) a po anestezii (vpravo).



Obr. 4. Zjišťování biometrických parametrů jikernačky při její současné identifikaci pomocí skeneru spojeného s počítačem.



Obr. 5. Individuální vážení jikernačky lína.

K indukci ovulace jikernaček lína byla používána jednak tradiční kapří hypofýza v dávce $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, jednak samotné analogy GnRH (dále GnRH_a), samotný inhibitor dopaminu (metaclopramide) a konečně i komerčně vyráběné hormonální přípravky obsahující jako účinnou látku GnRH_a (Supergestran s účinným GnRH_a Lecirelinem, výrobce Nordic Pharma, s.r.o.), případně GnRH_a v kombinaci s metaclopramide (maďarský preparát Ovopel a izraelský preparát Dagin). Jako „čistě“ hormony byly použity tři GnRH_a: [D-Arg⁶, Pro⁹, NET]-sGnRH; [D-Leu⁶, Pro⁹, NET]-mGnRH; [D-Ala⁶, Pro⁹, NET]-mGnRH (s výjimkou pokusu s dávkovou závislostí vždy v dávce $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$). Hormony byly dodány v lyofilizovaném stavu, před aplikací byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku. Přípravek Supergestran (obr. 8) obsahuje účinnou látku GnRH_a Lecirelin (*des* Gly¹⁰ D-Tle⁶, Pro⁹-NHet – mGnRH), je dodáván výrobcem v zatavených skleněných ampulkách v roztoku o objemu 2 ml v jedné ampulce o koncentraci $25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

(obr. 6). Ampulky jsou po deseti kusech uloženy v papírové krabici. Před aplikací se u ampulky ulomí vrchol a roztok se přímo, nebo se v případě potřeby naředí fyziologickým roztokem, nasaje do injekční stříkačky a aplikuje rybám. Přípravek Ovopel je dodáván v suchém stavu v bílých peletkách. Každá peletka obsahuje jednak GnRHa (*des Gly*¹⁰, D-Ala⁶, Pro⁹-NH₂ – *m*GnRH) v množství 20 µg.kg⁻¹, jednak inhibitor dopaminu (metoclopramide) v množství 2 mg.kg⁻¹. Přípravek Dagin je dodáván v uzavřených ampulkách v lyofilizovaném prášku. Obsahuje GnRHa (*des Gly*¹⁰, D-Arg⁶, Pro⁹NH₂ – *s*GnRH a inhibitor dopaminu (metoclopramide). Jednotlivé ampulky obsahují dávku pro 20 nebo 50 kg jikernaček (10 µg.kg⁻¹ GnRHa a 20 mg.kg⁻¹ metoclopramide). Hormonální přípravky byly anestetizovaným jikernačkám injikovány ve sterilním fyziologickém roztoku (0,9 g.l⁻¹ NaCl) pod bázi břišní ploutve (intraperitoneálně). Koncentrace injikovaných přípravků byla vždy zvolena tak, aby jikernačkám byl injikován, v závislosti na jejich hmotnosti, objem 1,0 ml.kg⁻¹. Jikernačky injikované různými hormonálními přípravky, resp. různými dávkami téhož přípravku, či jikernačky kontrolní skupiny (neinjikované), byly vždy umístěny odděleně v samostatných, průtočných nádržích (průtok vody zabezpečoval výměnu vody cca 1–2× za hodinu). V nádržích (obr. 6 a 7) byla udržována požadovaná teplota vody a obsah kyslíku (na odtoku neklesal pod hodnotu 5–6 mg.l⁻¹). Vyřené, osemeněné a odlepkované jikry lína byly inkubovány v Zugských lahvích (obr. 11).



Obr. 6. a 7. Nádrže pro generační ryby v experimentální hale FROV JU ve Vodňanech a v rybí líhni Rybníkářství Hluboká s.r.o.



Obr. 8. Kapřič hypofýza, injekční stříkačka s jehlou a skleněná třecí miska.



Obr. 9. Hormonální přípravek Supergestran a balený fyziologický roztok.



Obr. 10. Intramuskulární injekce anestetizované jikernačky lína do hřbetní svaloviny.



Obr. 11. Umělý výtěr anestetizované jikernačky lína.

4.2. Umělý výtěr mlíčáků lína

K indukci spermiace mlíčáků lína byl použit přípravek Supergestran obsahující účinnou látku GnRH α Lecirelin (*des Gly*¹⁰ D-Tle⁶, Pro⁹-NH Et – *mGnRH*) v dávce 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Injekce byla prováděna 1,5 dne před umělým výtěrem mlíčáků. Umělý výtěr mlíčáků nebyl předmětem ověřované technologie, proto je uváděn jen používaný postup. Při všech umělých výtěrech bylo postupováno s ohledem na specifické vlastnosti spermatu lína (Linhart, 1996; Linhart a kol., 2000), jež se vyznačuje naředěním močí. Moč u lína kontaminuje vytírané sperma při masáži stěny břichní (a tím současně masáži jak varlat, tak močového měchýře). Močí neřaděné sperma lína má osmotickou koncentraci 300 mOsmol.kg⁻¹. Vzhledem k tomu, že úroveň osmolality moči je jen 82–123 mOsmol.kg⁻¹, dochází po naředění spermatu močí k aktivaci spermií. Doporučený objem spermatu je 0,4 ml na 100 g vytřených jiker. Bylo postupováno podle metody navržené Linhartem (1996) a Linhartem a kol. (2000) založené na odběru uměle vytíraného spermatu do imobilizačního roztoku pro spermie. To umožňuje po jistou dobu uchovávat spermie v imobilizovaném stavu a docílit spolehlivého oplození jiker. Imobilizační roztok pro sperma lína (5 g NaCl, 2 g KCl a 10 g glycinu na jeden litr destilované vody nebo 10,5 g NaCl, 2,4 g Tris-HCl, pH 7,0) se používá v poměru jeden díl spermatu a dva díly imobilizačního roztoku (Linhart, 1996, Linhart a kol., 2000). Před odběrem spermatu byly naplněny jednorázové injekční stříkačky o objemu 10–20 ml do poloviny objemu imobilizačním roztokem. Vlastní výtěr mlíčáků prováděli dva až tři pracovníci. Po osušení byly ryby zabaleny do mokré, ale vyždímané utěrky, jeden pracovník držel mlíčáka v poloze břichem nahoru, přičemž břichní partie zůstávala odkryta. Další pracovník provedl otření pohlavní papily. Poté byla prsty zahájena masáž stěny břichní tak, aby pokud možno došlo na počátku k výtoku moče (je průzračná, vytéká proudem). Jakmile se objevilo opaleskující či bílé zbarvené sperma, další pracovník jej ihned

začal odsávat do injekční stříkačky. K vlastnímu odběru spermatu došlo krátce před předpokládaným výtěrem jikernaček. Odebrané sperma bylo přechováváno v imobilizačním roztoku a krátkodobě uchováváno v injekčních stříkačkách v chladničce při teplotě +4 °C.

4.3. Umělý výtěr jikernaček lína

Metodika a materiál

Zhruba 2–4 hodiny před předpokládaným dosažením ovulace byla prováděna kontrola výskytu jiker nalepených na stěnách a dně nádrže (hmatem ponořením ruky) a alespoň u části jikernaček po jejich vylovení a anestetizování pomocí mírného tlaku na břišní krajinu při poloze břichem nahoru. V případě zjištění ovulace u některé jikernačky se provede kontrola u všech jikernaček. Další kontroly, tentokrát již všech injikovaných jikernaček, se provádí v 1–2hodinových intervalech. Anestetizovanou a do navlhčené utěrky zabalenou jikernačku menší velikosti (do cca 600 g) zpravidla vytíral jeden zkušený pracovník samostatně ve stoje. Jikernačce drží jednou rukou shora ocasní násadec. Na předloktí druhé ruky má položenou hlavu a kranialní část břicha jikernačky. Následuje osušení močopohlavního otvoru a řitní ploutve od kapiček vody, které mohou způsobit při kontaktu s jikrou jejich aktivaci a po několika desítkách sekund uzavřít mikropyle jikry. Prsty stlačuje břišní partie jikernačky a provádí masážní pohyby břišní stěny kaudálním směrem tak, aby docházelo k výtoku jiker do misky umístěné těsně pod vytíranou jikernačkou. U větších jedinců se na umělém výtěru jikernačky podíleli dva pracovníci. Jeden z nich drží ocasní násadec ryby a druhý provádí pomocí obou rukou vlastní výtěr jiker. V případě dostatku pracovníků prováděl třetí pracovník otření pohlavní papily a břišních partií jikernačky, přidržoval výtěrovou misku a po výtěru zabezpečoval zakrytí a evidenci misek s jikrami. Místo, kde bylo manipulováno s generačními rybami před anestezií a po dobu anestezie, bylo dostatečně vzdáleno od místa výtěru, aby nehrozila kontaminace kapkami vody, ať již samotných jiker, nebo suchých misek připravených k použití při výtěru. Ihned po ukončení výtěru byly misky s jikrami zakrývány navlhčenou, dostatečně vyždímanou utěrkou, aby byly jikry ochráněny před osycháním a přehříváním.

4.3.1. Umělý výtěr jikernaček lína s indukci ovulace pomocí tří různých GnRH, inhibitoru dopaminu a při kombinovaném podání GnRH a inhibitoru dopaminu

Metodika a materiál

Při průměrné teplotě vody 21,1 °C, udržované první den před vlastním experimentem, byl proveden pokus řízené ovulace jikernaček lína obecného s cílem porovnat vliv podání samotných tří různých analogů GnRH, samotného inhibitoru dopaminu

a kombinace jednoho z GnRHa a inhibitoru dopaminu. Kontrolní skupina ryb injikována nebyla. Ve všech skupinách bylo po 10 jikernačkách o průměrné kusové hmotnosti 900 g (tab. 1). Byl vyhodnocen počet vytřených jikernaček (v %), délka intervalu latence (v h) a relativní hmotnost vytřených jiker (%).

Tab. 1. Výsledky umělého výtěru jikernaček lína po samostatném nebo společném podání GnRHa a inhibitoru dopaminu (metoclopramide) a v kontrole (fyziologický roztok) při teplotě 21,1 °C.

| Přípravek (dávka) | Počet jikernaček (ks) | Hmotnost jikernaček (g) | Počet ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|--|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| Kontrola | 10 | 977 ± 55 | 0 | – | – |
| Metoclopramide (20 mg kg ⁻¹) | 10 | 930 ± 67 | 0 | – | – |
| [D-Arg ⁶ , Pro ⁹ , NEt]-sGnRH (10 µg kg ⁻¹) | 10 | 945 ± 43 | 60 | 35,2 ± 2,1 | 6,1 ± 0,0 |
| [D-Leu ⁶ , Pro ⁹ , NEt]-mGnRH (10 µg kg ⁻¹) | 10 | 885 ± 38 | 70 | 34,5 ± 1,8 | 5,3 ± 0,9 |
| [D-Ala ⁶ , Pro ⁹ , NEt]-mGnRH (10 µg kg ⁻¹) | 10 | 915 ± 54 | 70 | 36,7 ± 1,6 | 6,6 ± 0,4 |
| [D-Ala ⁶ , Pro ⁹ , NEt]-mGnRH (10 µg kg ⁻¹) + metoclopramide (20 mg kg ⁻¹) | 10 | 897 ± 45 | 90 | 34,9 ± 2,4 | 6,8 ± 1,1 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztažený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně střední chyby průměru (průměr ± SEM).

Výsledky

U skupin injikovaných třemi různými GnRHa ovulovalo a bylo uměle vytřeno 60–70 % jikernaček (tab. 1). Ve skupině jikernaček injikovaných kombinací GnRHa a inhibitoru dopaminu ovulovalo a bylo uměle vytřeno 90 % jikernaček. V kontrolní skupině a skupině, kde byl podán samotný inhibitor dopaminu, neovulovala žádná jikernačka. Průměrné délky intervalu latence se u všech skupin vytřených jikernaček pohybovaly v rozpětí 34,5 ± 1,8 až 36,7 ± 1,6 h (dosažené rozdíly nebyly statisticky průkazné). Průměrné hodnoty relativní hmotnosti vytřených jiker kolísaly u výše uvedených čtyř skupin v rozpětí 5,3 ± 0,9 až 6,8 ± 1,1 % (dosažené rozdíly nebyly statisticky průkazné).

4.3.2. Umělý výtěr jikernaček lína s indukci ovulace pomocí různých dávek GnRHa

Metodika a materiál

Při průměrné teplotě vody 22,1 °C udržované 1 den před vlastním experimentem byl proveden pokus řízené ovulace jikernaček lína obecného s cílem porovnání vlivu výše dávky samotného GnRHa ([D-Ala⁶, Pro⁹, NET]-mGnRH) při dávkách 1; 2,5; 5; 10 a 20 µg.kg⁻¹. Pokus byl proveden ve dvou opakováních. V prvním opakování (tab. 2) bylo použito v každé skupině po 8 jikernačkách s průměrnou hmotností cca 500 g, ve druhém opakování (tab. 3) po 10 jikernačkách o průměrné hmotnosti cca 600 g. Kontrolní skupina jikernaček injikována nebyla. Byl vyhodnocen počet vytřených jikernaček (v %), délka intervalu latence (v h) a relativní hmotnost vytřených jiker (%).

Tab. 2. Výsledky umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 22,1 °C po jednorázovém podání různé výše dávky GnRHa (kontrola fyziologický roztok) (pokus 1).

| Dávka (µg kg ⁻¹) | Hmotnost jikernaček (g) | Počet jikernaček (ks) | Počet ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| Kontrola | 565 ± 46 | 8 | 0 | – | – |
| 1 | 571 ± 36 | 8 | 62,5 | 32,5 ± 0,9 | 6,5 ± 1,0 |
| 2,5 | 544 ± 31 | 8 | 62,5 | 33,2 ± 1,7 | 7,5 ± 1,6 |
| 5 | 570 ± 71 | 8 | 62,5 | 32,7 ± 0,5 | 8,3 ± 1,1 |
| 10 | 527 ± 29 | 8 | 87,5 | 31,9 ± 0,7 | 9,4 ± 0,9 |
| 20 | 603 ± 39 | 8 | 87,5 | 32,3 ± 0,5 | 6,8 ± 1,5 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztahený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM).

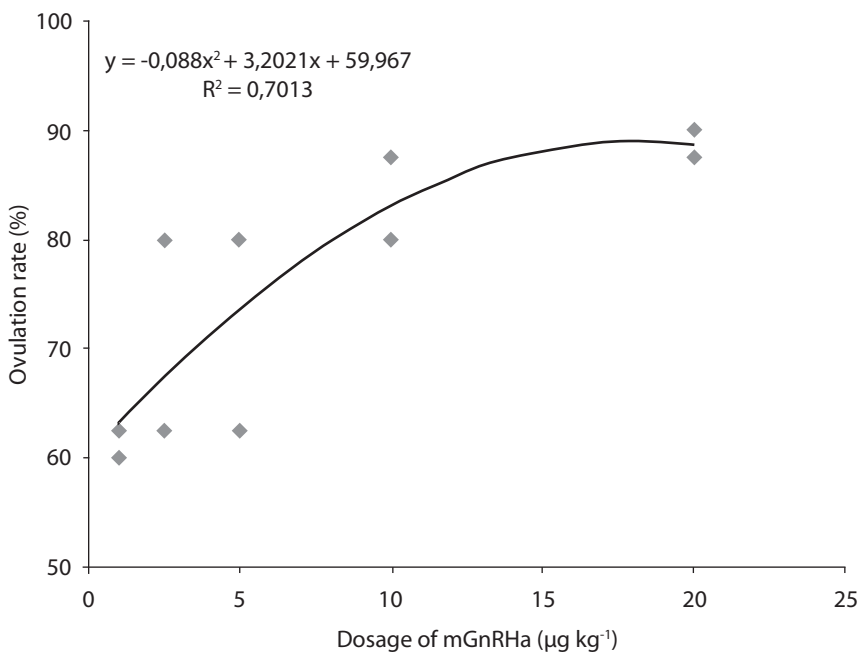
Výsledky

V obou opakováních ovulovalo a bylo uměle vytřeno 62,5–90 % injikovaných jikernaček (ve všech skupinách injikovaných GnRHa v různých dávkách) (tab. 2 a 3).

Tab. 3. Výsledky umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 22,1 °C po jednorázovém podání různé výše dávky GnRHa a v kontrole (fyziologický roztok) (pokus 2).

| Dávka ($\mu\text{g kg}^{-1}$) | Hmotnost jikernaček (g) | Počet jikernaček (ks) | Počet ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| Kontrola | 443 \pm 41 | 10 | 0 | – | – |
| 1 | 487 \pm 34 | 10 | 60 | 34,5 \pm 0,4 | 5,4 \pm 1,0 |
| 2,5 | 436, \pm 16 | 10 | 80 | 33,1 \pm 0,9 | 6,0 \pm 1,4 |
| 5 | 394 \pm 21 | 10 | 80 | 34,9 \pm 1,3 | 9,0 \pm 0,5 |
| 10 | 451 \pm 34 | 10 | 80 | 31,5 \pm 0,4 | 7,3 \pm 1,2 |
| 20 | 465 \pm 25 | 10 | 90 | 34,2 \pm 0,6 | 7,7 \pm 1,5 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztažený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr \pm SEM).



Obr. 12. Závislost % ovulujících a uměle vytřených jikernaček lína na výši jednorázově podané dávky GnRHa.

Průměrné délky intervalu latence se u všech skupin vytřených jikernaček pohybovaly v rozpětí $31,9 \pm 0,7$ h až $34,9 \pm 1,3$ h (dosažené rozdíly nebyly statisticky průkazné). Průměrné hodnoty relativní hmotnosti vytřených jiker kolísaly u výše uvedených čtyř skupin v rozpětí $5,4 \pm 1,0$ až $9,4 \pm 0,9$ (dosažené rozdíly nebyly v rámci jednotlivých opakování statisticky průkazné). Vliv výše dávky na % ovulovaných a uměle vytřených jikernaček (x) byl vyjádřen vztahem (obr. 11):

$$y = -0,088x^2 + 3,2021x + 59,967 \quad (R^2 = 0,7013)$$

Z vypočtené závislosti lze odvodit, že dostatečná dávka GnRHa pro indukci ovulace jikernaček lína je 10–20 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

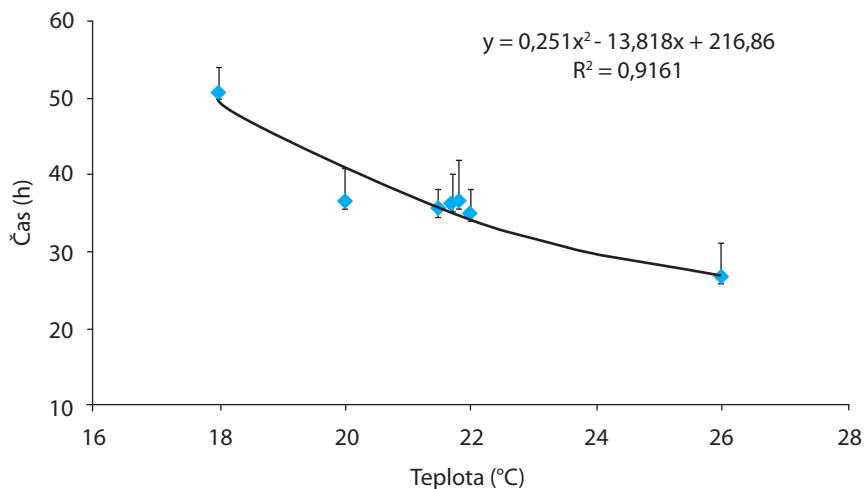
4.3.3. Umělý výtěr jikernaček lína při třech různých teplotách a použití kapří hypofýzy, GnRHa a kombinovaném podání GnRHa a inhibítorem dopaminu

Metodika a materiál

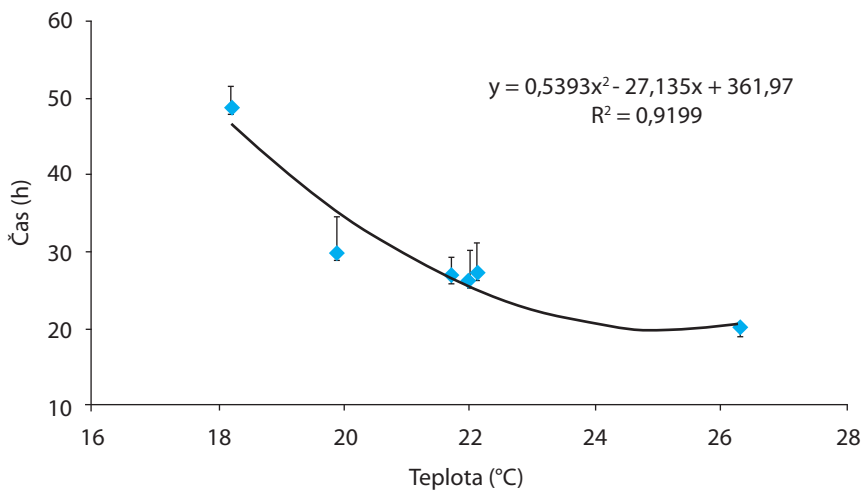
Byly provedeny tři série pokusů s umělým výtěrem lína, pokaždé při různé teplotě (18,1, 22,1 a 26,3 °C) (tab. 4–6). Z původní teploty vody 21 °C byla teplota po dobu 2 dnů postupně upravována na cílové hodnoty a poté byla 1 den na těchto hodnotách udržována před vlastním zahájením pokusu (tj. injekcí hormonálních přípravků). V každé sérii byly jikernačky rozděleny do tří skupin po 8 jedincích (průměrná hmotnost jikernaček byla 1 100 g), každá skupina byla jednorázově injikována různými hormonálními preparáty (acetonovaná kapří hypofýza (v dávce 2 mg.kg^{-1}), samotný GnRHa (Supergestran v dávce účinné látky Lecirelin 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), GnRHa + inhibitor dopaminu (Ovopel v dávce účinných látek 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, resp. 10 mg.kg^{-1}). Cílem bylo porovnání jak vlivu teploty, tak účinku jednotlivých přípravků na výsledky umělého výtěru. V těchto pokusech nebyly založeny kontrolní (hormonálně neošetřené) skupiny ryb. Byl vyhodnocen počet vytřených jikernaček (v %), délka intervalu latence (v h) a relativní hmotnost vytřených jiker (%). Při vyhodnocení závislosti vlivu teploty na délku intervalu latence byly použity i další exaktně zjištěné údaje z výše uvedených pokusů. Obsah kyslíku na odtok z nádrží s generačními rybami se v průběhu pokusů pohyboval v rozpětí 5–7 mg.l^{-1} .

Výsledky

U skupin injikovaných kapří hypofýzou ovulovalo a bylo uměle vytřeno v jednotlivých teplotně odlišných skupinách 25–50 % jedinců, při použití GnRHa ovulovalo v jednotlivých teplotně odlišných skupinách 75–100 % jedinců a u skupin injikovaných GnRHa spolu s inhibítorem dopaminu ovulovalo v jednotlivých teplotně odlišných skupinách vždy shodně 85,5 % jedinců (tab. 4–6). Průměrné hodnoty relativní hmotnosti vytřených jiker kolísaly u výše uvedených čtyř skupin v rozpětí $5,25 \pm 2,6$ % až $7,5 \pm 0,7$ % (dosažené rozdíly nebyly statisticky průkazné).



Obr. 13. Závislost délky intervalu latence (h) na teplotě vody (°C) u jikernaček lína jednorázově injikovaných kapří hypofýzou v dávce 2 mg.kg⁻¹.



Obr. 14. Závislost délky intervalu latence (h) na teplotě vody (°C) u jikernaček lína jednorázově injikovaných GnRHa v dávkách 20 µg.kg⁻¹.

Tab. 5. Výsledky umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 22,1 °C po jednorázovém podání kapří hypofýzy (2 mg.kg⁻¹), GnRHa (20 µg.kg⁻¹) a GnRHa (20 µg.kg⁻¹) spolu s inhibitorem dopaminu (metoclopramide, 2 mg.kg⁻¹).

| Teplota (°C) | Přípravek | Hmotnost jikernaček (g) | Podíl ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|--------------|----------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| 22,1 | kapří hypofýza | 1 212 ± 68 | 62,5 | 27,8 ± 0,9 | 6,1 ± 0,8 |
| | sGnRHa | 1 244 ± 52 | 75 | 31,2 ± 1,0 | 7,6 ± 1,2 |
| | sGnRHa + Met | 1 080 ± 91 | 87,5 | 35,0 ± 2,8 | 5,45 ± 1,1 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztahený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM).

Tab. 6. Výsledky umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 26,3 °C po jednorázovém podání kapří hypofýzy (2 mg.kg⁻¹), GnRHa (20 µg.kg⁻¹) a GnRHa (20 µg.kg⁻¹) spolu s inhibitorem dopaminu (metoclopramide 2 mg.kg⁻¹).

| Teplota (°C) | Přípravek | Hmotnost jikernaček (g) | Podíl ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|--------------|----------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| 26,3 | kapří hypofýza | 1 091 ± 57 | 50 ^a | 20,8 ± 3,5 ^a | 5,4 ± 0,6 |
| | sGnRHa | 1 066 ± 99 | 100 ^b | 29,1 ± 1,6 ^b | 7,5 ± 0,7 |
| | sGnRHa + Met | 1 112 ± 59 | 87,5 ^{ab} | 25 ± 2,2 ^{ab} | 6,7 ± 0,8 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztahený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM). Rozdílná písmena označují hodnoty se statisticky signifikantními rozdíly (P < 0,05).

Průměrné délky intervalu latence se statisticky průkazně lišily uvnitř jednotlivých sérií (tzn. při identických teplotách) mezi skupinami jikernaček injikovaných kapří hypofýzou na jedné straně a skupinami injikovanými GnRHa, resp. GnRha spolu s inhibitorem dopaminu.

Vliv teploty na délku intervalu latence při použití výše uvedených přípravků lze vyjádřit při použití kapří hypofýzy vztahem (obr. 12):

$$y = 0,251x^2 + 13,818x + 216,86 \quad (R^2 = 0,9161),$$

při použití GnRH, nebo GnRHa + inhibitor dopaminu vztahem (obr. 14):

$$y = 0,5393x^2 + 27,135x + 361,97 \quad (R^2 = 0,9199).$$

Jak je z uvedených závislostí patrné, délka intervalu latence je významně ovlivněna jednak teplotou (se zvyšující se teplotou se zkracuje), tak použitým přípravkem (při použití GnRHa, resp. GnRHa spolu s inhibitorem dopaminu se prodlužuje) (tab. 4–6, obr. 13).

4.3.4. Umělý výtěr jikernaček lína s indukci ovulace pomocí různých komerčně vyráběných hormonálních přípravků obsahujících GnRHa, resp. GnRHa a inhibitor dopaminu

Metodika a materiál

Byly provedeny tři samostatné pokusy s umělým výtěrem lína při použití čtyř různých komerčně vyráběných hormonálních přípravků: acetonovaná kapří hypofýza (2 mg.kg⁻¹), Supergestran (dávka GnRH 20 µg.kg⁻¹), Ovopel (dávka mGnRH 20 µg.kg⁻¹ a dávka metoclopramide 2 mg.kg⁻¹) a Dagin (dávka 10 µg.kg⁻¹ GnRHa a dávka 20 mg.kg⁻¹ metoclopramide) při teplotách v rozpětí 19,1–21,7 °C (tab. 7–9). V prvním pokusu bylo použito v každé skupině vždy 36 jikernaček o průměrné hmotnosti 400 g, ve druhém v jednotlivých skupinách 26–31 jikernaček o průměrné hmotnosti 500 g a ve třetím ve všech skupinách shodně 35 jikernaček o průměrné hmotnosti 1 000 g. Cílem pokusů bylo porovnání vlivu účinku jednotlivých přípravků na výsledky umělého výtěru. V těchto pokusech nebyly založeny kontrolní (hormonálně neošetřené) skupiny. Byl vyhodnocen počet vytřených jikernaček (v %), délka intervalu latence (v h) a relativní hmotnost vytřených jiker (%). Při vyhodnocení závislosti vlivu teploty na délku intervalu latence byly použity i další exaktně zjištěné údaje z výše uvedených pokusů. Ve druhém z pokusů byla vyhodnocena i líhnivost vzorků vytřených, uměle oplozených a inkubovaných jiker (u jednotlivých skupin jikernaček). Obsah kyslíku na odtoku z nádrží s generačními rybami v průběhu pokusů se pohyboval v rozpětí 5–7 mg.l⁻¹.

Výsledky

U skupin injikovaných kapří hypofýzou ovulovalo a bylo uměle vytřeno v jednotlivých pokusech 40–72 % jedinců, při použití Supergestranu ovulovalo 54–68 % jedinců, při použití Ovopelu 58–86 % jedinců a při použití Dagingu 69–83 % jedinců (tab. 7–9). Průměrné hodnoty relativní hmotnosti vytřených jiker kolísaly u výše uvedených čtyř skupin v rozpětí 4,5 ± 2,6 až 8,0 ± 3,2 %.

Průměrné délky intervalu latence se statisticky průkazně lišily uvnitř jednotlivých sérií (tzn. při identických teplotách) mezi skupinami jikernaček injikovaných kapří hypofýzou a skupinami injikovanými GnRHa, resp. GnRHa spolu s inhibitorem dopaminu (tab. 7–9).

Tab. 7. Výsledky prvního provozního umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 21,7 °C po jednorázovém podání kapří hypofýzy a tří komerčních hormonálních přípravků (Supergestran, Ovopel a Dagin) obsahujících GnRH_a, resp. GnRH_a a inhibitor dopaminu (metaclopramid).

| Přípravek | Počet jikernaček (ks) | Hmotnost jikernaček (g) | Podíl ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|----------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| Kapří hypofýza | 36 | 460 ± 96 | 72 | 22,5 ± 4,6 ^a | 7,4 ± 3,6 |
| Supergestran | 36 | 429 ± 95 | 56 | 35,6 ± 2,6 ^b | 7,4 ± 5,1 |
| Ovopel | 36 | 417 ± 86 | 72 | 36,7 ± 5,2 ^b | 7,3 ± 3,2 |
| Dagin | 36 | 427 ± 98 | 69 | 36,2 ± 3,9 ^b | 8,0 ± 3,2 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztažený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM). Rozdílná písmena označují hodnoty se statisticky signifikantními rozdíly ($P < 0,05$).

Tab. 8. Výsledky druhého provozního umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 21,7 °C po jednorázovém podání kapří hypofýzy a tří komerčních hormonálních přípravků (Supergestran, Ovopel a Dagin) obsahujících GnRH_a, resp. GnRH_a a inhibitor dopaminu (metaclopramid).

| Přípravek | Počet jikernaček (ks) | Hmotnost jikernaček (g) | Podíl ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) | Líhivost jiker (%) |
|----------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|--------------------|
| Kapří hypofýza | 31 | 501 ± 92 | 55 | 26,9 ± 2,3 ^a | 6,4 ± 3,0 ^a | 59,3 ± 34,8 |
| Supergestran | 28 | 501 ± 106 | 68 | 33,8 ± 2,3 ^b | 5,4 ± 2,9 ^a | 58,9 ± 24,0 |
| Ovopel | 26 | 475 ± 91 | 58 | 31,9 ± 1,7 ^b | 4,5 ± 2,6 ^b | 80,4 ± 11,5 |
| Dagin | 28 | 471 ± 123 | 75 | 32,1 ± 1,5 ^b | 7,4 ± 6,1 ^a | 67,4 ± 8,1 |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztažený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM). Rozdílná písmena označují hodnoty se statisticky signifikantními rozdíly ($P < 0,05$).

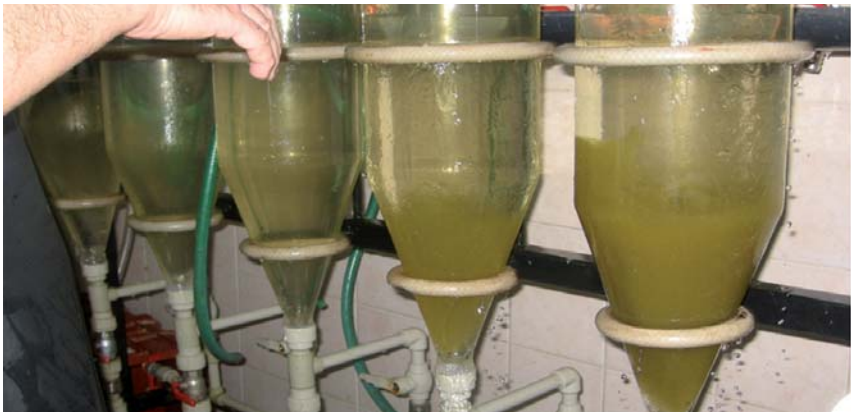
Tab. 9. Výsledky třetího provozního umělého výtěru jikernaček lína při teplotě 19,9 °C po jednorázovém podání kapří hypofýzy a tří komerčních hormonálních přípravků (Supergestran, Ovopel a Dagin) obsahujících GnRH_a, resp. GnRH_a a inhibitor dopaminu (metaclopramid).

| Přípravek | Počet jikernaček (ks) | Hmotnost jikernaček (g) | Podíl ovulovaných jikernaček (%) | Délka intervalu latence (h) | Relativní hmotnost vytřených jiker (%) |
|----------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| Kapří hypofýza | 35 | 990 ± 198 | 40 | 30,4 ± 2,4 ^b | 4,9 ± 3,1 ^a |
| Supergestran | 35 | 988 ± 193 | 54 | 36,5 ± 3,3 ^a | 6,3 ± 2,9 ^a |
| Ovopel | 35 | 1 029 ± 171 | 86 | 38,9 ± 4,7 ^a | 6,1 ± 2,5 ^a |
| Dagin | 35 | 1 051 ± 172 | 83 | 36,4 ± 4,3 ^a | 5,6 ± 3,5 ^a |

Pozn.: Zjištěné parametry hmotnosti jikernaček, délky intervalu latence a relativní hmotnosti vytřených jiker (procentuální podíl vytřených jiker vztažený k hmotnosti jikernaček před výtěrem) jsou uvedeny v průměrných dosažených hodnotách, včetně SEM (průměr ± SEM). Rozdílná písmena označují hodnoty se statisticky signifikantními rozdíly ($P < 0,05$).

5. OSEMENĚNÍ, ODLEPOVÁNÍ JIKER A INKUBACE JIKER A PŘECHOVÁVÁNÍ VÁČKOVÉHO PLŮDKU

Po osemnění bylo při následném odlepování jiker postupováno podle metody navržené Linhartem a kol. (2000, 2003a, b). Inkubace odlepovaných jiker byla uskutečněna v desetilitrových Zugských lahvích (obr. 14), vykulený plůdek byl přechováván buď v kolíbkách (z Uhelonu s velikostí ok 0,3 mm), nebo v přístrojích Dněpr se spodním přítokem a kruživým průtokem vody.



Obr. 14. Inkubace jiker lína v Zugských lahvích.

6. CELKOVÉ SHRNU TÍ VÝSLEDKŮ

Pro indukci ovulace jikernaček lína obecného byla identifikována dávka v rozpětí 10–20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ GnRH_a jako optimální (Podhorec a kol., 2011). Zmíněná dávka GnRH_a je vysoce účinná i v suboptimálních teplotních podmínkách, v případech nízké (18 °C) nebo naopak zvýšené (26 °C) teploty vody (Podhorec a kol., 2012b). V rybářské praxi je možno pro potřeby umělé reprodukce lína a některých dalších druhů ryb využívat buď hormonální preparáty obsahující GnRH_a (Supergestran), nebo kombinovaných přípravků obsahujících GnRH_a a inhibitor dopaminu (Ovopel a Dagin) (Kouřil a kol., 2008a, b). Posledně uvedené kombinované přípravky mají své opodstatnění u většiny kaprovitých druhů (kapr, amur, tolstolobik aj.) vyznačujících se velmi silnou dopaminovou inhibicí sekrece LH a ovulace, což však neplatí pro lína (Podhorec a kol., 2012a). Lín je na rozdíl od ostatních kaprovitých druhů ryb schopen dosáhnout ovulace i po aplikaci samotného GnRH_a bez nutnosti současné aplikace inhibitoru dopaminu. S klesající teplotou vody se doba od injekce do ovulace prodlužuje a naopak (pro lepší využití v podmínkách praxe je závislost uvedena i v tabulární podobě v tab. 10).

Tab. 10. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody při hormonální indukci ovulace jikernaček lína pomocí kapří hypofýzy (v dávce 2 mg.kg^{-1}) a GnRH_a (v dávkách 10–20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), resp. GnRH_a a inhibitoru dopaminu (v dávkách 10–20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, resp. 2 mg.kg^{-1}).

| Teplota (°C) | | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 |
|-----------------------------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Délka intervalu latence (h) | kapří hypofýza | 50 | 42 | 35 | 29 | 24 | 22 | 20 | 20 | 20 |
| | GnRH _a | 52 | 41 | 36 | 35 | 34 | 32 | 30 | 28 | 27 |

7. EKONOMICKÝ PŘÍNOS VÝROBNÍHO POSTUPU PRO PODNIKATELSKÝ SUBJEKT

Zvýšení účinnosti použitých hormonálních přípravků na bázi GnRH_a (namísto tradiční kapří hypofýzy) vede k úspoře vlastních nákladů spočívající ve snížení nákladů na generační ryby – a to zejména díky vyššímu % vytřených jikernaček, rovněž vyššímu množství vytřených jiker a dále díky snížení pracovních nákladů, vzhledem k možnosti lepší organizace práce s ohledem na lepší znalost závislosti délky intervalu latence na teplotě vody. Při předpokládané roční produkci 20 mil. kusů váčkového plůdku lína (v ceně 60 Kč za 1 tis. ks váčkového plůdku), tzn. celkové ceně 1 200 tis. Kč a vlastních nákladech na dosažení této produkce ve výši 600 tis. Kč, lze při využití předložené technologie dosáhnout snížení nákladů o 20 %, tzn. o 120 tis. Kč ročně.

8. UPLATNĚNÍ VÝROBNÍHO POSTUPU V PRODUKCI PODNIKATELSKÉHO SUBJEKTU

Předložená technologie je využívána u firmy BaHa s.r.o., zaměřené převážně na umělou reprodukci a produkci váčkového plůdku řady druhů ryb, včetně lína (od poloviny roku 2011 využívá ke své činnosti pronájmu rybí líhně v Mydlovarech).

9. SEZNAM LITERATURY

- Amaral, H. J., Santos, I. L., Pérez-Redagera, J. J., 1995. Induced spawning of tench *Tinca tinca* (L.) 1758 by means of crude extracts of *Gallus domesticus* hypophysis. Polish Archives of Hydrobiology 42: 69–73.
- Barth, T., Kouřil, J., Hamáčková, J., Velek, J., Barthová, J., Hulová, I., Ježek, J., Pospíšek, J., 1997. Induced ovulation and artificial stripping in tench (*Tinca tinca* L.) and other freshwater fish species by means of GnRH analogues, Czech experiences 1980–1996. A minireview. Polish Archives of Hydrobiology (Fish Reproduction '96) 44: 183–190.
- Drori, S., Ofir, M., Levavi-Sivan, B., Yaron, Z., 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture 119: 393–405.
- Flajšhans, M., Kvasnička, P., Ráb, P., 1993. Genetic studies in tench (*Tinca tinca* L.): high incidence of spontaneous triploidy. Aquaculture 110: 243–248.
- Hamáčková, J., Chábera, S., Kouřil, J., 1978. Zkušenosti s umělým výtěrem lína. Rybářství 4: 75.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Kozák, P., Stupka, Z., Kouřil, J., Lepič, P., 2004. The efficacy of various anaesthetics in tench (*Tinca tinca* L.) related to water temperature. Veterinarni Medicina 12: 467–472.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Stupka, Z., 2006. Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species. Bulgarian Journal of Agricultural Science 12: 185–194.
- Horvath, L., Szabo, T., Burke, J., 1997. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Polish Archives of Hydrobiology 44: 221–226.
- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2007.

- Anestetika v rybářství. Edice Metodik (Technologická řada), VÚRH JU, Vodňany, č. 77, 19 s.
- Kopáčik, L., 1959. Nieskolko poznatkov z umelého liahnutia lieňa. Československé rybářství 7: 101.
- Kouril, J., 1998. Hormonally induced spawning of tench *Tinca tinca* (L.) females. (A review), Polish Archives of Hydrobiology 45: 415–433.
- Kouřil, J., Chábera, S., 1976. Umělý výtěr lína obecného (*Tinca tinca* L.). Bulletin VÚRH Vodňany 12: 7–13.
- Kouřil, J., Barth, T., 1981. Artificial induction of ovulation by LH-RH in tench (*Tinca tinca* L.). Bulletin VÚRH Vodňany 17: 13–18.
- Kouril, J., Barth, T., Hamackova, J., Flegel, M., 1986. Induced ovulation in tench (*Tinca tinca* L.) by various LH-RH synthetic analogues: effective of site of administration and temperature. Aquaculture 54: 37–44.
- Kouril, J., Barth, T., Hamackova, J., Flegel, M., 1998. Induced ovulation in tench (*Tinca tinca* L.) by various LH-RH synthetic analogues: effect of site of administration and temperature. Aquaculture 54: 37–44.
- Kouril, J., Hamackova, J., Barth, T., 2006. Hormonal induction of artificiale propagation of fish. Proc. Conf. Biotechnology 2006, C. Budejovice, Czech Republic, pp. 251–253.
- Kouřil, J., Svoboda, M., Hamáčková, J., Kaláb, J., Kolářová, J., Lepičová, A., Sedova, M., Savina, L., Moreno Rendón, P., Svobodová, Z., Barth, T., Vykusová, B., 2007. Repeated administration of different hormonal preparations for artificial stripping and their effects on reproduction, survival and blood biochemistry profiles of female tench (*Tinca tinca* L.). Czech Journal of Animal Science 52: 183–188.
- Kouril, J., Mraz, J., Hamáčková, J., 2008a., Hormonally induction of artificiale propagation of tench (*Tinca tinca* L.). Proc. Conf. Genetics, Breeding Business and Reproduction of Fishes, St. Peterburg/Ropsha (Russia), 3 pp.
- Kouril, J., Mraz, J., Hamackova, J., Barth, T., 2008b. Hormonal induction of tench (*Tinca tinca* L.) ovulation with the same treatments over two consecutive reproductive seasons. Cybium 32: 61.
- Kubů, F., Kouřil, J., 1985. Lín obecný. Praha, ČRS, 100 s.
- Linhart, O., Billard, R., 1995. Biology of gametes and artificial reproduction in common tench (*Tinca tinca* L.). A review. Polish Archives of Hydrobiology 42: 37–56.
- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M., 2000. Umělý výtěr lína obecného s využitím enzymu při odlepkování jiker. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 63, 14 s.

- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M., 2003a. Proteolytic enzyme treatment: an improved method for elimination of egg stickiness in tench, *Tinca tinca* L. in aquaculture. Journal of Applied Ichthyology 19: 134–137.
- Linhart, O., Rodina, M., Gela, D., Flajshans, M., Kocour, M., 2003b. Enzyme treatment for elimination of egg stickiness in tench (*Tinca tinca* L.), European catfish (*Silurus glanis* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish Physiology and Biochemistry 28: 507–508.
- Lukowich, M., Proske, Ch., 1979. Production and reproduction of tench. Riv. Ital. Pisc. Ittiopatol. 14: 109–112.
- Podhorec, P., Kouřil, J., 2009. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. Veterinarni Medicina 54: 97–110.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Drozd, B., Policar, T., Stejskal, V., Kouril, J., 2011. Effective dose mGnRH α for induction of ovulation in tench (*Tinca tinca*). Aquaculture 319: 184–187.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, T., Svinger, V. W., Drozd, B., Kouril, J., 2012a. Dopamine control of LH release in tench (*Tinca tinca*). General and Comparative Endocrinology 175: 34–38.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, T., Svinger, V. W., Kouril, J., 2012b. The effects of water temperature and various hormonal treatments on luteinizing hormone release and ovulation in tench (*Tinca tinca*). Reviews in Fish Biology and Fisheries. (*submitted*)
- Pokorný, J., 1974. Nedoceněná ryba. Výtěr lína a odchov plůdku. Rybářství 12: 268–270.
- Pokorný, J., Kouřil, J., 1983. Intenzivní chov lína. Edice Metodik, VÚRH Vodňany, č. 5, 14 s.
- Probst, E., 1938. Die kunstliche befruchtung bei Karpfen und Schleien. Allgemeine Fischerei-Zeitung 63: 130–135.
- Steffens, W., 1995. The tench (*Tinca tinca* L.), a neglected pond fish species. Polish Archives of Hydrobiology 42: 161–180.
- Yaron, Z., Sivan, B., Drori, S., Kulikovski, Z., 2002. Spawning induction in cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. Bulletin VÚRH Vodňany 38: 62–74.

Poděkování

Autoři děkují za pomoc spolupracovníkům z FROV JU Vodňany, především ing. Jitce Hamáčkové a ing. Janu Mrázovi, Ph.D., dále pak Ing. Viktoru Švingerovi, RNDr. Božku Drozdovi, Ph.D., Ing. Pavlu Lepičovi a doc. Ing. Tomáši Policarovi, Ph.D. a rovněž pracovníkům rybní líhně Mydlovary, Rybníkářství Hluboká na Vltavou, s.r.o.

EXTERNÍ ODBORNÝ OPONENT

Ing. Richard Vachta

*Rybářské, hydrobiologické a vodohospodářské služby
P. Chelčického 371, 389 01 Vodňany*

INTERNÍ ODBORNÝ OPONENT

Ing. David Gela, Ph.D.

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany*

Ověření a uplatnění technologie 2011,

Rybí líheň Mydlovary, BaHa s.r.o. České Budějovice

Adresa autorského kolektivu

prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz a Ústav akvakultury,
Husova tř. 458/102, 370 05 České Budějovice, www.frov.jcu.cz*

Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz a Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický,
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz*

*V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Fakulta rybářství a ochrany vod, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany.*

Redakce: Mgr. Miroslav Boček a Zuzana Dvořáková

Náklad: 200 ks

Vydáno v roce 2011

Grafický design a technická realizace: Comunica, a.s.



EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
INVESTICE DO UDRŽITELNÉHO RYBOLOVU

VYDÁNÍ A TISK PUBLIKACE BYLO USKUTEČNĚNO ZA FINANČNÍ
PODPORY PROJEKTU OP RYBÁŘSTVÍ:
PŘÍPRAVA A VYDÁNÍ METODICKÝCH PUBLIKACÍ V ROCE 2011

reg. č. CZ.1.25/3.1.00/11.00301



ISBN 978-80-87437-31-5