



Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis*) používaný k masové produkci embryí

T. Polícar, S. M. H. Alavi, V. Stejskal, J. Kříšťan, J. Kouřil



FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis*) používaný k masové produkci embryí

T. Polícar, S. M. H. Alavi, V. Stejskal, J. Kříšťan, J. Kouřil

**VYDÁNÍ PUBLIKACE BYLO USKUTEČNĚNO
ZA FINANČNÍ PODPORY PROJEKTU:**

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:**

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

(NAZV QH91310, MZe ČR)

***Vývoj a optimalizace metod intenzivního chovu candáta obecného (*Sander lucioperca*)
a okouna říčního (*Perca fluviatilis*) v ČR***

(NAZV QI101C033, MZe ČR)

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)



ISBN 978-80-87437-35-3

OBSAH

1. ÚVOD	7
1.1. Současný význam okouna říčního	7
1.2. Způsoby chovu okouna říčního v Evropě	7
1.3. Současná produkce tržního okouna v Evropě	8
1.4. Chov generačních ryb	9
1.5. Úspěšný výtěr generačních ryb a následná produkce kvalitních embryí	10
2. CÍL	11
3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE	11
4. POPIS TECHNOLOGIE	12
4.1. Chov a získání generačních ryb pro masové výtěry	12
4.1.1. Technologický postup	12
4.1.2. Výsledky	12
4.2. Příprava a hormonální injikace generačních ryb	12
4.2.1. Technologický postup	12
4.2.2. Výsledky	16
4.3. Realizace umělého a poloumělého výtěru generačních ryb	17
4.3.1. Technologický postup	17
4.3.1.1. <i>Kontrola generačních ryb před umělým výtěrem</i>	17
4.3.1.2. <i>Umělý výtěr jiker</i>	17
4.3.1.3. <i>Získání spermatu od generačních mlíčáků</i>	18
4.3.1.4. <i>Umělé oplození jiker</i>	19
4.3.1.5. <i>Poloumělý výtěr jiker</i>	19
4.3.2. Výsledky	21
4.3.2.1. <i>Efektivita, latence a synchronizace obou způsobů výtěru</i>	21
4.3.2.2. <i>Plodnost jikernaček a celková produkce jiker obou způsobů výtěru</i>	22
4.3.2.3. <i>Plodnost mlíčáků při umělém výtěru</i>	23
4.4. Hodnocení oplozenosti jiker a líhivosti embryí ve vzorcích	23
4.4.1. Technologický postup	23
4.4.2. Výsledky	24
4.5. Masová umělá inkubace jiker	25
4.5.1. Technologický postup	25
4.5.2. Výsledky	26

4.6. Masové líhnutí a produkce embryí k následnému chovu	27
4.6.1. Technologický postup	27
4.6.2. Výsledky	27
4.7. Mortalita generačních ryb při výtěrovém období a po něm	28
4.7.1. Technologický postup	28
4.7.2. Výsledky	29
5. EKONOMICKÝ PŘÍNOS TECHNOLOGIE PRO PODNIKATELSKÝ SUBJEKT	30
6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE VE VÝROBĚ PODNIKATELSKÉHO SUBJEKTU	30
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	30

1. ÚVOD

1.1. Současný význam okouna říčního

Okoun říční (*Perca fluviatilis*) se dostal do popředí zájmu evropské akvakultury v posledních dvou desetiletích (Kestemont a Mélard, 2000). Vysoká poptávka (až 10 000 tun za rok) po okouních filetech je především v alpských zemích (Švýcarsko, Německo, Francie a Rakousko) (Policar a kol., 2009). Současný hlavní trh s okounem je lokální, vázaný především na zmíněné státy alpského regionu (Watson, 2008). Okouna říčního považují konzumenti z těchto zemí za delikatesu díky jeho bílému, chutnému a netučnému masu bez svalových „Y“ kostí (Watson, 2008; Stejskal a kol., 2010).

Okoun říční se také velmi efektivně využívá k eliminaci nadměrného výskytu drobných a hospodářsky méně cenných kaprovitých ryb v rybníkářství a při obhospodařování vodárenských nádrží (Policar a kol., 2009; Stejskal a kol., 2010). V polykulturních rybích obsádkách tak napomáhá udržovat stabilní produkci hospodářsky významných druhů. Ve vodárenských nádržích zajišťuje predační tlak okouna říčního stabilní a dostatečný výskyt zooplanktonu, a tím i vyšší kvalitu vody (Adámek a kol., 2010).

1.2. Způsoby chovu okouna říčního v Evropě

V současné době existují čtyři způsoby produkce tržního okouna říčního (extenzivní, polointenzivní a intenzivní odchov a průmyslový odlov z volných vod) (Policar a kol., 2009). Extenzivně je okoun říční chován v rybnících ve třech až čtyřletých produkčních cyklech. Okoun říční je při tomto způsobu chovu doplňkovým druhem v polykulturní obsádce s výraznou převahou kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (Bláha, 2006).

Polointenzivní produkce okouna říčního využívá kombinaci extenzivního a intenzivního chovu. Tento způsob chovu okouna je založen na chovu generačních ryb v rybnících, jejich umělé či poloumělé reprodukci, umělé inkubaci jiker, líhnutí embryí a rybničním odchovu larev a juvenilních ryb do velikosti TL = 30–50 mm. Po výlovu z rybníků jsou okouni adaptováni na podmínky recirkulačního akvakulturního systému (RAS) a umělé peletované krmivo. Následuje intenzivní chov okouna v RAS (Policar a kol., 2009; Stejskal a kol., 2010).

Intenzivní chov okouna říčního je založen na plně kontrolovaném chovu v RAS již od reprodukce generačních ryb až po konečnou fázi odchovu tržních ryb. Tento způsob chovu využívá domestikovaných generačních ryb, environmentální (řízený teplotní a světelný režim) stimulaci vývoje gonád generačních ryb, poloumělého a umělého výtěru, umělé inkubace jiker, odchovu larev v kontrolovaných podmínkách s využitím nauplií žábřonožky solné (*Artemia salina*) a startérových směsí (např. od firmy

Biomar, Aller Aqua a dalších). Následně jsou v RAS chovány juvenilní ryby až do dosažení tržní velikosti (obr. 1) či kategorie generačních ryb (Mélard a kol., 1996; Kestemont a kol., 2008; Polícar a kol., 2009). Okouni jsou chováni v optimálních podmínkách pro jejich růst (teplota vody 23 °C, obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě na úrovni 100 %, optimální chemismus vody a uspokojení potravních nároků), což výrazně zkracuje produkční interval v porovnání s extenzivním způsobem chovu. Vysoká hustota intenzivně odchovávaných okounů (až 60 kg.m⁻³) zaručuje vysokou efektivitu práce (Mélard a kol., 1996).

Posledním způsobem produkce tržního okouna říčního je průmyslový odlov tohoto druhu z volných vod, např. velkých jezer nebo řek především v oblasti Skandinávie a zemí bývalého Sovětského svazu (Watson, 2008).



Obr. 1. Tržní okoun o hmotnosti 100–150 g.

1.3. Současná produkce tržního okouna v Evropě

Podle současných statistik FAO (2011a,b) bylo v Evropě v roce 2009 celkem vyprodukováno 23 524 tun tržního okouna. Tato produkce byla z 99 %, tj. 23 264 tun, založena především na odlovu volně žijících okounů z evropských jezer, řek a přehrad. Nejvíce okounů (10 590 tun) bylo odloveno ve Finsku, dále v Rusku (8 785 tun), Estonsku (1 645 tun), Polsku (838 tun) a Švýcarsku (342 tun) (FAO, 2011a). Chovem bylo v Evropě v roce 2009 vyprodukováno 260 tun okouna říčního (FAO, 2011b). Na této produkci se podílelo celkem 14 zemí, z nichž nejvýznamnější byly: Rusko (140 tun), Ukrajina (25 tun), Makedonie (29 tun), Irsko (24 tun) a Česká republika (18 tun).

1.4. Chov generačních ryb

Kvalitní generační materiál okouna říčního v podobě dobře chovaných, vyživovaných pohlavně zralých mlíčáků a jikernaček je základ úspěšného intenzivního chovu okouna říčního. V současné době se využívá dvou způsobů chovu generačních okounů: prvním způsobem je klasický extenzivní až polointenzivní chov generačních ryb v rybnících v polykulturních obsádkách hospodářsky významných druhů ryb (Policar a kol., 2009). Při tomto chovu přijímají generační ryby především přirozenou potravu v podobě drobných potravních ryb. Vývoj gonád a dozrávání pohlavních produktů u těchto ryb probíhá v přirozených podmínkách, v kterých se neprovádí žádné speciální chovatelské zásahy, jež ovlivňují světelný či teplotní režim. Takto chované ryby produkují během chovu kvalitní pohlavní produkty zajišťující vysokou oplozenost jiker a líhivost embryí (Fontaine a kol., 2008). Avšak generační ryby se vytírají jen v přirozeném termínu výtěru v dané oblasti chovu okouna říčního (v Evropě většinou od března do června) (Ashe, 1997; Rougeot a kol., 2008). V ČR dochází k výtěru generačních ryb okouna říčního nejčastěji v průběhu dubna. Při tomto způsobu chovu generačních ryb má produkce okouna sezónní charakter (Kouřil a kol., 2001).

Druhým způsobem chovu generačních ryb okouna říčního je chov ryb v neustále kontrolovaných podmínkách intenzivního chovu v RAS (Policar a kol., 2009). Celý management kontrolovaného chovu musí zajišťovat: (1) optimální výživu generačních ryb, která pozitivně ovlivňuje vývoj a kvalitu gonád a gamet (Abi-Ayad, a kol., 1995; Fiogbé, a kol., 1996; Abi Ayad, a kol., 1997; Fontaine a kol., 1997; Xu a Kestemont, 2002; Fiogbe a Kestemont, 2003; Fontaine a kol., 2008; Kestemont a kol., 1996; 2001; 2003; Mathis a kol., 2003; Xu a kol., 2001) a (2) optimální podmínky prostředí (především řízený teplotní a světelný režim) tak, aby generační ryby byly na začátku výtěrového období v optimální kondici, měly ukončenou spermatogenezi a oogenezi a byly připravené na výtěr (Fontaine a kol., 2008). Detailní popis environmentální stimulace spermiogeneze a oogeneze lze nalézt v následujících publikacích: Abdulfatah a kol., 2008; Fontaine a kol., 2008; Jansen a Fontaine, 2008 a Policar a kol., 2009. K výživě generačních ryb okouna říčního v intenzivních chovech doporučujeme využívat speciální umělé krmné směsi, které mají adekvátní poměr HUFA mastných kyselin (vysoce nenasycené mastné kyseliny) tj. především kyselina dokosaheksaenová (DHA), eikosapentaenová (EPA) a arachidonová (ARA) (Kestemont a kol., 2008). Optimální krmivo určené pro výživu generačních ryb okouna říčního, které zaručuje vysokou kvalitu jiker, embryí a larev, by mělo obsahovat poměr výše zmíněných HUFA kyselin na hodnotě 2 DHA/1 EPA/1 ARA (Fontaine a kol., 2008).

1.5. Úspěšný výtěr generačních ryb a následná produkce kvalitních embryí

Úspěšně provedený výtěr generačních ryb, který následně zajistí masovou produkci kvalitních embryí, je dalším ze základních předpokladů úspěšného a perspektivního chovu a produkce tržního okouna (Polícar a kol., 2009). Do současné doby je experimentálně otestováno a popsáno několik způsobů výtěrů a také několik způsobů stimulace a synchronizace výtěru generačních ryb okouna (West a Leonard, 1978; Kayes a Calbert, 1979; Flajšhans a Göndör, 1989; Kucharczyk a kol., 1996, 1998; Dabrowski a kol., 1994; Kouřil a Linhart, 1997; Kouřil a kol., 1997; Kouřil a Hamáčková, 1999, 2000; Polícar a kol., 2008a, 2008b, 2008c, 2009). Díky tomu můžeme generační okouny efektivně rozmnožovat umělým, poloumělým či přirozeným způsobem. Umělý výtěr zahrnuje hormonální injekci generačních ryb, vytlačení ovulovaných jiker a spermií z těla generačních ryb, umělé oplození jiker a umělou inkubaci oplozených jiker v kontrolovaných podmínkách. Při poloumělém výtěru jsou generační ryby, podobně jako při výtěru umělém, hormonálně stimulovány. Výtěr ryb a oplození jiker probíhají však přirozeně. Oplozené jikry jsou potom sbírány v podobě jikrných provazců a uměle inkubovány v kontrolovaných podmínkách. Při přirozeném výtěru, ať již sezónním či mimosezónním, nejsou ryby hormonálně stimulovány, jikry jsou oplozeny přirozeně a dále inkubovány v kontrolovaných či nekontrolovaných podmínkách (Polícar a kol., 2009).

K stimulaci dozrávání a uvolňování gamet (jiker a spermií) a k synchronizaci výtěru generačních ryb můžeme použít injekce různých hormonálních substancí např.: kapří hypofýzu, choriogonadotropiny a syntetické analogy GnRHa komerčních preparátů, např.: Chorulon, Supergestran a Dagin (Dabrowski a kol., 1994; Kucharczyk a kol., 1996, 1998; Kouřil a Linhart, 1997; Kouřil a kol., 1997; Kouřil a Hamáčková 1999, 2000; Kouřil a kol., 2001; Polícar a kol., 2008a, 2008b, 2008c) či řízeného teplotního režimu (výtěr ryb stimulovat zvýšením teploty vody o 2–6 °C) (Polícar a kol., 2009).

Díky těmto experimentálním poznatkům jsme mohli během aplikovaného výzkumu otestovat a v praxi českého rybářského podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. ověřit technologický postup masové produkce embryí okouna říčního, pomocí umělého a poloumělého výtěru generačních ryb hormonálně stimulovaného komerčním hormonálním přípravkem Supergestran.

2. CÍL

Cílem této práce bylo popsat, provést a v praxi ověřit technologii masové produkce embryí okouna říčního, která byla získána hormonálně stimulovaným umělým a poloumělým výtěrem generačních ryb pomocí komerčního hormonálního přípravku Supergestranu. Tímto technologickým postupem jsme ověřili (1) rybniční způsob chovu generačních ryb a (2) přípravu generačních ryb na výtěrové období. Následně jsme otestovali (3) hormonální injekci generačních ryb hormonálním přípravkem Supergestran. V průběhu výtěrového období byla sledována efektivita (úspěšnost), latence (období od hormonální injekce po vlastní výtěr jikernačky) a synchronizace umělého a poloumělého výtěru u jikernaček. U jikernaček a mlíčáků byla dále sledována plodnost. Následně jsme ověřili (4) technologický postup umělého oplození jiker při umělém výtěru, (5) postup umělé inkubace jiker a (6) líhnutí embryí v rámci umělého a poloumělého výtěru, který byl hodnocen z hlediska oplozenosti jiker a líhivosti embryí. Na závěr byla (7) zhodnocena povýtěrová mortalita generačních ryb a využití generačních ryb po výtěrovém období.

3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE

Technologický postup byl ověřen v praxi českého rybářského podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. (obr. 2) v průběhu let 2009–2011. Řada poloprovozních pokusů zabývajících se chovem generačních ryb v rybnících, umělým a poloumělým výtěrem generačních ryb, hodnocením plodnosti jikernaček a mlíčáků, umělou inkubací oplozených jiker a líhnutím embryí okouna říčního byla provedena v experimentálním rybochovném zařízení Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity (FROV JU) ve Vodňanech (obr. 3).



Obr. 2 a 3. *Produkční líheň Rybářství Nové Hradky s.r.o. (vlevo) a experimentální rybochovné zařízení FROV JU ve Vodňanech (vpravo).*

4. POPIS TECHNOLOGIE

4.1. Chov a získání generačních ryb pro masové výtěry

4.1.1. Technologický postup

V průběhu let 2009–2011 bylo na produkčních rybnících: Blatec (48°50'28"N, 14°44'55"E), Nakolický (48°48'21"N, 14°50'5"E), Byňovský (48°49'22"N, 14°48'15"E) a Smutný (48°50'7"N, 14°45'43"E) chováno generační hejno okouna říčního v polykultuře s ostatními hospodářsky významnými druhy ryb: kapr obecný (*Cyprinus carpio*), lín obecný (*Tinca tinca*), amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*), štika obecná (*Esox lucius*), candát obecný (*Sander lucioperca*) a sumec obecný (*Silurus glanis*). Ve zmíněných rybnících byly dále přítomny hospodářsky méně významné druhy ryb: plotice obecná (*Rutilus rutilus*), perlín ostrobříchý (*Scardinius erythrophthalmus*) a invazivní druh střevlička východní (*Pseudorasbora parva*). Tyto druhy ryb tvořily hlavní potravu chovaných generačních okounů říčních. Při jarních výloveh těchto rybníků v roce 2009–2011 byly postupně získány čtyřleté generační ryby okouna říčního. Již při výlovu byly vybírány jen zdravotně a kondičně kvalitní ryby, které byly následně transportovány na rybí líhně Rybářství Nové Hrady či FROV JU ve Vodňanech. Zde byly okouni nasazeni do zemních sádek (FROV JU) či do betonových manipulačních nádrží (Nové Hrady) společně s krmnou rybou – střevličkou východní v hmotnostním poměru 1 kg okouna říčního : 2 kg střevličky východní.

4.1.2. Výsledky

V průběhu let 2009–2011 bylo každoročně pro účely masového umělého a poloumělého výtěru získáno 150–160 ks generačních jikernaček (TL = 215,8 ± 24,5 mm a W = 187,32 ± 5,0 g) a 150–160 ks generačních mlíčáků (TL = 196,4 ± 18,5 mm a W = 140,3 ± 76,0 g).

4.2. Příprava a hormonální injikace generačních ryb

4.2.1. Technologický postup

Po přibližně 1–3týdenní aklimatizaci generačních ryb v sádkách či nádržích byly na rybích líhních pro výtěr znovu ještě vybrány jen kvalitní ryby bez zdravotních problé-

mů a poškození povrchu těla. U jikernaček byla při výběru hodnocena zaplněnost břišních partií, která charakterizuje jejich dobrou připravenost na výtěr (obr. 4). U mlíčáků byli vybíráni jen jedinci, kteří po masáži břišních partií samovolně uvolňovali smetanově bílé sperma bez příměsí krve (obr. 5).



Obr. 4 a 5. Vhodná jikernačka a mlíčák uvolňující sperma – generační ryby vybrané pro výtěr.

Z vybraných generačních ryb byly každoročně vytvořeny dvě skupiny jikernaček po 60 rybách a dvě skupiny mlíčáků po 76 a 60 rybách s cílem realizovat umělý a poloumělý výtěr. Výtěr probíhal v kontrolovaných podmínkách rybí líhně při teplotě vody $15,2 \pm 0,2$ °C a obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě $8,3 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ (tj. cca 85% nasycení O_2).

Při umělém výtěru bylo 60 jikernaček rozděleno po 20 ind. (obr. 6) do třech žlabů (každý o objemu $0,7 \text{ m}^3$ vody) semi-recirkulačního akvakulturního systému. U mlíčáků byly v rámci umělého výtěru vytvořeny dvě skupiny, kdy jedna skupina čítala 60 mlíčáků, určených pro oplodňování získaných jiker z umělých výtěrů, a druhá skupina mlíčáků byla tvořena 16 náhodně vybranými mlíčáky, kteří byli určeni k odběru spermatu pro stanovení plodnosti mlíčáků. Všichni mlíčáci byli v rámci umělého výtěru drženi odděleně od jikernaček. Velká skupina mlíčáků byla držena ve speciálním gumotextilním vaku o objemu 6 m^3 vody. Malá skupina mlíčáků byla držena v jednom žlabu o stejných rozměrech, jako byly žlaby, kam byly nasazovány jikernačky.

U poloumělého výtěru bylo vytvořeno 6 skupin ryb, kdy každá skupina zahrnovala 20 generačních ryb: 10 jikernaček a 10 mlíčáků. Jednotlivé skupiny ryb byly vysazeny celkem do 6 nádrží o užitém objemu $0,7 \text{ m}^3$ vody.



Obr. 6. Generační jikernačky při tvorbě jednotlivých skupin u umělého výtěru.

Po vytvoření jednotlivých skupin u obou způsobů výtěru, byly ryby v daných nádržích aklimatizovány po dobu 2 dnů, kdy byla zvýšena teploty vody z původních 11,4 °C (teplota vody odpovídající venkovní teplotě vody) na požadovaných 15,0–15,5 °C. U všech ryb byla zjištěna celková délka (TL) a hmotnost (W). Při manipulaci s generačními rybami byly všechny ryby zklidněny pomocí anestetika: hřebíčkový olej v dávce 0,033 ml.l⁻¹ s expozicí 3–4 minuty (Hamáčková a kol., 2001; Policar a kol., 2009). Po zklidnění byly všechny ryby označeny podkožními elastomery VIE (Visible Implant Elastomer tag, Northwest Marine Technology, Ltd., USA). Ryby využívané pro umělý výtěr byly značeny oranžovou barvou a ryby využívané pro poloumělý výtěr byly označeny červenou barvou elastomerů. Všechny ryby byly značeny podkožními elastomery vždy na hlavě. Všechny jikernačky u umělého či poloumělého výtěru a 16 náhodně vybraných mlíčáků u umělého výtěru, kteří byli následně využíváni na odběr spermatu pro stanovení jejich plodnosti, byli značeni pomocí podkožních elastomerů individuálně. Značení jikernaček a 16 mlíčáků v dané skupině probíhalo tak, že umístění elastomeru na hlavě dané ryby představovalo číslo dané ryby ve skupině. Tím bylo zaručeno individuální značení ryb v dané skupině pro identifikaci ryb při výtěru (obr. 7).



Obr. 7. Značení generačních ryb podkožními elastomery.

Po značení ryb byl intramuskulárně injikován do hřbetní svaloviny po levé straně těla ryb hormonální přípravek Supergestran, který obsahuje účinnou látku Lecirelin -sGnRH α (D- Tle⁶, Pro⁹, Net) v koncentraci 25 $\mu\text{g GnRH}\alpha\cdot\text{ml}^{-1}$ přípravku (obr. 8). Pro hormonální injikaci generačních jikernaček byla zvolena jednotná dávka 50 $\mu\text{g GnRH}\alpha\cdot\text{kg}^{-1}$ jikernačky. Při takovéto dávce byl přípravek Supergestran generačním jikernačkám aplikován v dávce 2 ml Supergestranu. kg^{-1} jikernačky. Generační mlíčáci nebyli hormonálně stimulováni, protože všichni vybraní mlíčáci uvolňovali sperma spontánně.



Obr. 8. Intramuskulární hormonální injekce generační jikernačky.

4.2.2. Výsledky

Provedení anestezie a biometrického šetření všech použitých 256 generačních ryb, hormonální injekce všech jikernaček a značení všech jikernaček spolu s 16 vybranými mlíčáky trvalo čtyřem zkušeným pracovníkům celkem 4 hodiny.

Pro umělé i poloumělý výtěr byly využity stejně velké generační ryby – jikernačky s $TL = 236,4 \pm 27,2$ mm a $W = 190,2 \pm 83,0$ g a mlíčáci s $TL = 184,2 \pm 19,3$ mm a $W = 137,6 \pm 68,2$ g.

V průběhu tohoto procesu a ani 2 dny poté nebyla zaznamenána žádná mortalita generačních okounů. Při hormonální stimulaci generačních jikernaček bylo celkem injikováno 22,8 kg ryb a spotřebováno 46 ml hormonálního přípravku Supergestran. Celkové náklady na hormonální injekci byly 1 556 Kč (při současné ceně hormonálního přípravku Supergestran 33,82 Kč za 1 ml přípravku).

4.3. Realizace umělého a poloumělého výtěru generačních ryb

4.3.1. Technologický postup

4.3.1.1. Kontrola generačních ryb před umělým výtěrem

Stav genitální papily a ovulace jiker u generačních jikernaček začal být kontrolován 24 hodin po jejich hormonální injikaci. Počáteční interval kontroly generačních jikernaček byl přibližně 6 hodin. Po výtěru první jikernačky byly ryby kontrolovány častěji, tj. v intervalu 3 hodin. Častější kontrola generačních ryb byla nutná z důvodu zabránění spontánnímu výtěru a uvolnění jiker do vody. Kontroly byly prováděny velmi opatrně, aby nedocházelo ke stresu a poranění těla generačních ryb.

4.3.1.2. Umělý výtěr jiker

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

Celková snůška jedné jikernačky byla zvážena na vahách Kern PCB 800 s přesností 0,01 g. Z této snůšky byly odebrány tři vzorky jiker o přibližné hmotnosti kolem 1 gramu. Tyto vzorky byly následně zváženy na analytických vahách Mettler AE 200 s přesností 0,001 g. V každém takto přesně zváženém vzorku byl spočítán počet jiker. **Počet jiker na 1 g jikrného provazce** byl získán vydělením celkového počtu jiker ve vzorku jeho hmotností v gramech. Celkový údaj o **absolutní plodnosti jikernačky** (počet jiker získaných od jikernačky) byl získán vynásobením počtu jiker v 1 g jikrného provazce celkovou hmotností daného provazce (celé snůšky). Relativní plodnost jikernačky byla získána tak, že absolutní plodnost byla vydělena hmotností dané jikernačky a následně bylo toto číslo vynásobeno 1 000×. 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 injikace po vlastní výtěr jikernačky ve dnech, hodinách a denních stupních. Dále byla stanovena také **efektivita (úspěšnost) výtěru** (procento vytřených ryb) a **synchronizace výtěru** jikernaček (kumulativní počet výtěrů za jednotku času).

Misky s vytřenými jikrami byly zakryty čistou vlhkou utěrkou a umístěny ve stínu na chladné podlaze rybí líhny. Tímto způsobem bylo možné jikry po výtěru krátkodobě uchovat (zhruba do jedné hodiny po výtěru) a shromáždit více vytřených jikrných provazců určených k umělému oplození jiker.

4.3.1.3. Získání spermatu od generačních mlíčáků

Sperma od předem vybraných 60 generačních mlíčáků bylo odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 5–10 ml. Při odběru spermatu byla masírována břišní partie těla mlíčáků, která je ukončena genitální papilou (obr. 9). Takto odebrané sperma bez kontaminace vodou, močí či krve bylo krátkodobě uchováno v lednici při teplotě 4–6 °C. Po získání spermatu od více mlíčáků (minimálně od tří) bylo toto sperma použito pro umělé osemenění dříve vytřených a získaných jiker od generačních jikernaček.

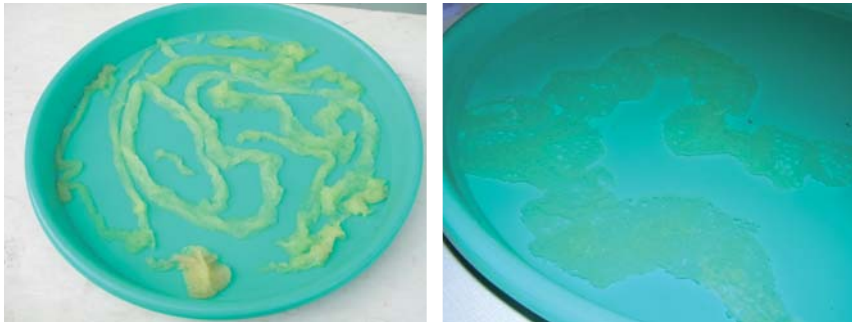


Obr. 9. Odběr spermatu u generačního mlíčáka.

U 16 předem vybraných a individuálně označených mlíčáků bylo v průběhu výtěrového období odebráno sperma za účelem zjištění **plodnosti mlíčáků a charakteristiky spermatu**. U těchto mlíčáků byl zjišťován objem získaného spermatu v mililitrech a hustota spermií v miliardách na 1 ml spermatu podle metodiky Alavi a kol. (2007). Objem spermatu byl zjišťován pomocí injekční stříkačky s přesností na 0,1 ml. Hustota spermií byla spočtena v Bürkerově komůrce. Nejprve bylo sperma 1 000× zředěno fyziologickým roztokem (0,7% NaCl). Deset μ ml zředěného spermatu bylo nanášeno do hematocytometru pod mikroskop. Zde se sperma nechalo 10 minut sedimentovat a poté byly spermie spočítány v 16 čtvercích hematocytometru. Vynásobením celkového objemu spermatu a hustoty spermií v 1 ml jsme získali **absolutní plodnost – celkový počet spermií získaných od jednoho mlíčáka**. Jestliže jsme absolutní plodnost mlíčáka vydělili hmotností daného mlíčáka v gramech a následně jsme toto číslo vynásobili 1 000krát, zjistili jsme **relativní plodnost – celkový počet spermií získaných na 1 kg hmotnosti mlíčáka**.

4.3.1.4. Umělé oplození jiker

Po získání jiker a spermatu bylo přistoupeno k umělému oplození jiker suchou metodou. Pro oplození jednoho jikrného provazce (obr. 10) bylo použito sperma od tří mlíčáků, které bylo odebráno odděleně do injekčních stříkaček. Na 100 g jiker (celkem přibližně 59 200 jiker) bylo použito celkem 2 ml spermatu (celkem 58 400 000 000 spermií), což představuje poměr přibližně 1 milion spermií na jednu jikru. Po aplikaci spermatu na suché jikry byly jikry se spermiemi pečlivě promíchány. Proces oplození jiker byl zahájen zalitím jiker čistou vodou z líhně. Směs pohlavních produktů a vody byla ještě jemně promíchána a poté odstavena na dobu 3 minut (obr. 11). Poté byla směs jiker, spermií a vody ještě propláchnuta čistou vodou z líhně. Po propláchnutí byly čisté oplozené jikrné provazce individuálně nasazovány k umělé inkubaci do plastových děrovaných košíčků (300 × 200 × 80 mm) (obr. 14) umístěných ve žlabech v rámci RAS (teplota vody 15,5 ± 0,5 °C).



Obr. 10 a 11. Jikrný provazec před umělým oplozením (vlevo) a po něm (vpravo).

4.3.1.5. Poloumělý výtěr jiker

Při poloumělém výtěru nebyla nutná ani častá kontrola ani manipulace s vytíranými rybami, protože generační jikernačky a mlíčáci byli nasazováni společně. Ryby se po nasazení a po hormonální injekci jikernaček vytíraly přirozeně a spontánně. Po zaznamenání prvního výtěru bylo do každé ze všech šesti nádrží (0,7 m³) nainstalováno 6 suchých větví (délka cca 80–120 cm) z měkkých dřevin (např.: vrba jíva – *Salix caprea* či bez černý – *Sambucus nigra*). Tyto větve sloužily generačním okounům jako přirozený výtěrový substrát (obr. 12). Instalace výtěrového substrátu (větví) významným způsobem zlepšila podmínky pro výtěr ryb. Ryby ztratily svojí plachost a volně proplavávaly mezi větvemi. Při výtěru ryby využívaly tento substrát k ukotvení jikrných provazců a oplození jiker. Pro dostatečnou evidenci a sběr vytřených a oplozených jikrných provazců byla prováděna kontrola vytřených generačních ryb a sběr nakladených a oplozených jikrných provazců v intervalu 6 hodin.



Obr. 12 a 13. Odchovná nádrž s vloženým výtěrovým substrátem pro generační okouny (vlevo) a zjišťování objemu jikrného provazce při poloumělém výtěru (vpravo).

Při sběru jikrných provazců jsme také odstraňovali již vytřené jikernačky a spolu s jejich evidenčním číslem byl zaznamenán přibližný čas jejich výtěru. Mlčící byli v nádržích ponecháni až do výtěru poslední jikernačky. U sesbíraných jikrných provazců jsme objemovou metodou podle Kouřila a kol. (1998), Kouřila a Hamáčkové (2000) a Kouřila a kol. (2001) zjišťovali pomocí odměrného válce s vodou celkový objem celého jednoho jikrného provazce (obr. 13). Dále byl zjištěn **počet jiker v 1 ml daného jikrného provazce** (viz hodnocení oplozenosti jiker) a **následně celkový počet jiker v daném jikrném provazci**. Pro stanovení počtu jiker v jednom mililitru jikrného provazce byl vždy odebrán malý vzorek jiker cca o objemu 1 ml. U odebraného vzorku byl objemovou metodou (podobně jako u stanovení objemu jednotlivých jikrných provazců) stanoven pomocí odměrného válce s vodou objem vzorku jiker. Dále byl u vzorku jiker spočítán počet všech jiker ve vzorku. Následně byl vypočítán počet jiker na 1 mililitr jikrného provazce tak, že počet jiker ve vzorku byl vydělen objemem vzorku v mililitrech.

Údaje o výtěru (datum a čas sběru jikrných provazců, číslo vytřené jikernačky a množství jiker v daném provazci) byly, podobně jako u výtěru umělého, zaznamenány do výtěrových listů. Podle zjištěného času výtěru každé jikernačky jsme po výtěrovém období spočítali délku **latence** (období od hormonální injekce po vlastní výtěr) a **synchronizaci výtěru** (kumulativní počet výtěrů za jednotku času). Dále byla stanovena **úspěšnost (efektivita) výtěru** (počet a procento vytřených jikernaček) a **pracovní absolutní a relativní plodnost** jikernaček (počet jiker na jikernačku a počet jiker na kilogram hmotnosti jikernačky). Získané a sebrané jednotlivé jikrné provazce byly dále uměle inkubovány v plastových košičkách umístěných do žlabů v rámci RAS.

4.3.2. Výsledky

4.3.2.1. Efektivita, latence a synchronizace obou způsobů výtěru

Umělý a poloumělý výtěr jikernaček byl úspěšný. Při umělém výtěru se vytřelo 83 % jikernaček a při poloumělém dokonce 88 % jikernaček (tab. 1).

Tab. 1. Efektivita, latence a synchronizace výtěru generačních jikernaček při umělém a poloumělém výtěru.

Ukazatel	Umělý výtěr	Poloumělý výtěr
Počet vytřených jikernaček	50	53
Procento vytřených jikernaček	83	88
Počet vytřených mlíčáků	60	nehodnoceno
Procento vytřených mlíčáků	100	nehodnoceno
Latence výtěru (dny)	3,5 ± 0,8	4,1 ± 0,7
Latence výtěru (hodiny)	84,0 ± 18,3	98,5 ± 17,2
Latence výtěru (denní stupně)	53,2 ± 11,5	62,3 ± 10,6
Synchronizace výtěru (procento vytřených jikernaček za období)	83/96 h	88/72 h

Při umělém výtěru bylo úspěšně vytřeno všech 76 mlíčáků. U poloumělého výtěru není možné zjistit úspěšnost výtěru jednotlivých mlíčáků. S reprodukcí mlíčáků okouna říčního (uvolňování a produkce spermatu) v době přirozeného období výtěru nenastal žádný problém. V případě umělého výtěru je vhodné pro úspěšný výtěr zajistit dostatečné množství kvalitních mlíčáků. Podle našich zkušeností doporučujeme při umělém i poloumělém výtěru použít poměr mezi mlíčáky a jikernačkami 1 : 1.

Z hlediska pracnosti, časového a odborného nároku na obsluhu je umělý výtěr, na rozdíl od poloumělého výtěru pracnější, což je dáno nutností časté kontroly jikernaček. Častá kontrola u umělých výtěrů je nutná, protože eliminuje výskyt spontánních výtěrů, a tím znehodnocení jiker. Navíc se při umělém výtěru musí mlíčáci uměle vytříit (odběr spermatu) a jikry uměle oplodnit. Tyto činnosti jsou velmi časově a odborně náročné a také významným způsobem ovlivňují množství a kvalitu oplozených jiker a následně líhivost embryí. Nesporná výhoda náročného postupu umělého výtěru spočívá v získání velmi dobrého přehledu o produkci a oplození jiker.

Generační jikernačky se při poloumělém výtěru začaly spontánně rozmnožovat o 14,4 h později v porovnání s umělým způsobem výtěru. Doba latence generačních jikernaček okouna byla tedy u poloumělého výtěru delší (tj. 4,1 ± 0,7 dní či 98,5 ± 17,2 hodin či 62,3 ± 10,6 °d) než u výtěru umělého (3,5 ± 0,8 dní či 84,0 ± 18,3 hodin či 53,2 ± 11,5 °d) (tab. 1).

Výtěr generačních ryb byl při poloumělém výtěru více synchronizován, neboť 88 % ryb bylo vytřeno v průběhu 3 dnů (tab. 1). Kumulativní procento vytřených jikernaček u obou způsobů výtěru je uvedeno v tab. 2. U umělého výtěru byly generační jikernačky vytírány 4 dny. Nástup a průběh umělého výtěru byl v porovnání s poloumělým výtěrem pozvolnější (tab. 1 a 2).

Tab. 2. Kumulativní procento vytřených jikernaček v průběhu výtěrového období při umělém a poloumělém výtěru.

Druh výtěru	Den po hormonální injekci					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Umělý výtěr	0	0	22	67	75	83
Poloumělý výtěr	0	0	0	33	77	88

4.3.2.2. Plodnost jikernaček a celková produkce jiker obou způsobů výtěru

Absolutní a relativní plodnost jikernaček vytřených při umělém a poloumělém výtěru výrazně kolísala. Při umělých výtěrech byla průměrná absolutní plodnost jikernaček $30\,721 \pm 28\,796$ jiker (s minimem 5 234 a maximem 92 003 jiker). Podobných hodnot absolutní plodnosti jikernaček bylo dosaženo i u poloumělého výtěru, kdy průměrná absolutní plodnost byla $32\,215 \pm 30\,128$ jiker na jednu jikernačku s minimální hodnotou 4 567 jiker a maximální hodnotou 153 687 jiker. Průměrná relativní plodnost jikernaček byla u umělého výtěru 161 689 jiker. kg^{-1} a u poloumělého výtěru 169 552 jiker. kg^{-1} (tab. 3). Plodnost jikernaček byla ovlivněna velikostí jejich těla. Vliv způsobu výtěru na plodnost jikernaček nebyl prokázán.

Při hodnocení plodnosti jikernaček v rámci umělého výtěru bylo zjištěno, že 1 g jikrného provazce obsahuje v průměru $592,0 \pm 162,4$ jiker. U poloumělého výtěru bylo zjištěno, že 1 ml jikrného provazce v průměru obsahuje $248,0 \pm 79,3$ jiker (tab. 3).

Celkem bylo při umělém výtěru generačních ryb získáno 1 500 000 jiker, z kterých bylo na vzorky odebráno přibližně 89 000 jiker. Ze všech umělých výtěrů (tj. od 50 úspěšně vytřených jikernaček) bylo nasazeno přibližně 1 400 000 jiker na inkubaci.

Při poloumělém výtěru bylo celkem od 53 úspěšně vytřených jikernaček získáno 1 700 000 jiker, z kterých bylo přibližně 40 000 jiker odebráno na vzorky, tj. 1 660 000 jiker ze všech poloumělých výtěrů bylo nasazeno k masové inkubaci jiker.

Tab. 3. Absolutní a relativní plodnost generačních jikernaček při umělém a poloumělém výtěru.

Ukazatel	Umělý výtěr	Poloumělý výtěr
Absolutní plodnost jikernaček (počet jiker. jikernačka⁻¹)	30 721 ± 28 796	32 215 ± 30 128
Relativní plodnost jikernaček (počet jiker.kg⁻¹)	161 689 ± 149 500	169 552 ± 157 000
Počet jiker v 1 g provazce (počet jiker. g provazce⁻¹)	592 ± 162	nehodnoceno
Počet jiker v 1 ml provazce (počet jiker. ml provazce⁻¹)	nehodnoceno	248 ± 79

4.3.2.3. Plodnost mlíčáků při umělém výtěru

Při umělém výtěru bylo u 16 mlíčáků odebráno sperma o průměrném objemu $2,8 \pm 1,5$ ml od jednoho mlíčáka. Minimálně bylo od jednoho mlíčáka odebráno 0,55 ml spermatu a maximálně 6,7 ml spermatu. Bylo zjištěno, že okouní sperma má vysokou hustotu spermií (průměrná hustota spermií $29,2 \times 10^9 \pm 15,3 \times 10^9$ spermií.ml⁻¹ spermatu). Minimální hustota spermií byla zjištěna na hodnotě $3,3 \times 10^9$ spermií.ml⁻¹ spermatu a maximální $196,8 \times 10^9$ spermií.ml⁻¹ spermatu. Následně bylo spočítáno, že jeden mlíčák uvolnil v průměru v rámci umělého výtěru $81,8 \times 10^9$ spermií, tj. $583,0 \times 10^9$ spermií.kg⁻¹. U poloumělých výtěrů nebyla plodnost mlíčáků hodnocena, ale lze předpokládat, že mlíčáci produkovali sperma ve stejném objemu a stejné hustotě.

4.4. Hodnocení oplozenosti jiker a líhivosti embryí ve vzorcích

4.4.1. Technologický postup

V průběhu masové inkubace jikrných provazců získaných z jednotlivých umělých a poloumělých výtěrů byly odebrány tři vzorky jiker z každého jikrného provazce. Tyto vzorky sloužily pro stanovení oplozenosti jiker 24 h po provedeném umělém oplození jiker nebo 24 h po odebraném jikrném provazci v rámci poloumělého výtěru. Vždy byl odebrán malý vzorek jiker cca 1 ml jikrného provazce, podobně jako tomu bylo u poloumělého výtěru, když byl zjišťován počet jiker v 1 ml jikrného provazce. Takto vytvořené vzorky jiker byly inkubovány v Petriho miskách (o průměru 120 mm a objemu 75 ml). Při inkubaci jiker v miskách byla v 12hodinových intervalech sledována teplota a pH vody a obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě. Teplota vody v Petriho miskách v průběhu inkubace jiker byla $16,2 \pm 0,7$ °C, pH = $7,5 \pm 0,2$ a obsah rozpuštěného kyslíku $O_2 = 7,0 \pm 0,5$ mg.l⁻¹. Voda v Petriho miskách byla jednou za 12 h vyměňována. U každého odebraného vzorku byl spočítán počet všech jiker a počet oplozených jiker

ve vzorku. Následně bylo spočítáno procento oplozenosti jiker. Oplozenost jiker byla zjištěna, když byl počet oplozených jiker vydělen počtem všech jiker ve vzorku a výsledek byl vynásoben stem. Na konci inkubace při vylíhnutí všech embryí byla stanovena líhivost embryí, délka inkubace ve dnech, hodinách a denních stupních. Líhivost embryí byla zjištěna, když byl počet vylíhnutých embryí vydělen počtem všech jiker ve vzorku a následně vydělen stem.

4.4.2. Výsledky

V průběhu inkubace jiker byla zjištěna vyšší oplozenost jiker ($85,6 \pm 8,7$ %) ve vzorcích pocházejících z poloumělých výtěrů oproti výtěrům umělým ($67,5 \pm 6,5$ %) (tab. 4). Průměrná délka inkubace jiker byla 6,5–6,8 dní. Zjištěná délka inkubace jiker byla především závislá na teplotě vody, ve které byly jikry inkubovány. Vliv způsobu výtěru na délku inkubace nebyl zaznamenán. O 7 hodin kratší inkubace jiker po poloumělých výtěrech generačních ryb byla spíše způsobena tím, že termín poloumělého výtěru byl stanoven s nepřesností jedné až šesti hodin. Naopak u umělého výtěru byl znám přesně čas výtěru jednotlivých ryb (tab. 4). Na konci inkubace jiker byla zjištěna vyšší průměrná líhivost embryí pocházejících z poloumělých výtěrů ($72,9 \pm 12,3$ %) oproti výtěrům umělým ($58,4 \pm 5,2$) (tab. 4).

Tab. 4. Oplozenost jiker, délka inkubace a líhivost embryí u odebraných vzorků při umělém a poloumělém výtěru.

Ukazatel	Umělý výtěr	Poloumělý výtěr
Oplozenost jiker (%)	$67,5 \pm 6,5$	$85,6 \pm 8,7$
Délka inkubace (dny)	$6,8 \pm 1,5$	$6,5 \pm 1,25$
Délka inkubace (hodiny)	$163,2 \pm 36$	$156,0 \pm 30,0$
Délka inkubace (°d)	$110,2 \pm 24,3$	$105,3 \pm 20,3$
Líhivost embryí ve vzorcích (%)	$58,4 \pm 5,2$	$72,9 \pm 12,3$

4.5. Masová umělá inkubace jiker

4.5.1. Technologický postup

Po výtěru byly provazce jednotlivých ryb inkubovány ve speciálních košíčcích (obr. 14) nejprve jednotlivě. Po odběru vzorků na stanovení oplozenosti jiker a líhivosti embryí byly inkubovány vždy společně 3 jikrné provazce na jeden košíček, který byl umístěn v odchovných žlabech RAS. Průměrná teplota vody při masové inkubaci byla $15,8 \pm 0,4$ °C, pH = $7,4 \pm 0,1$ a obsah rozpuštěného kyslíku $O_2 = 8,0 \pm 0,2$ mg.l⁻¹. Jednotlivé jikrné provazce byly vkládány do košíčků podle termínu jejich získání, což následně usnadnilo obsluhu práci při čištění vylíhnutých embryí. V průběhu inkubace jiker byla v intervalu 12 h kontrolována teplota vody, obsah rozpuštěného kyslíku a pH. Ve stejném intervalu byl hodnocen embryonální vývoj zárodků, což bylo důležitou podmínkou pro úspěšnou inkubaci jiker. Provazce, u kterých se jikry nevyvíjely normálně, popřípadě začaly odumírat (obsah jiker začal bělat), byly z jednotlivých košíčků odstraňovány. Hrozilo nebezpečí, že odumřelé jikrné provazce výrazným způsobem zhorší kvalitu vody při inkubaci zdravých provazců. Na konci masové inkubace jiker byla stanovena délka inkubace ve dnech, hodinách a denních stupních a líhivost embryí (počet získaných embryí byl vydělen počtem nasazených jiker a následně vynásoben stem).



Obr. 14. Masová inkubace jikrných provazců v košíčcích.

4.5.2. Výsledky

Masová inkubace jiker (obr. 15) trvala průměrně 7,5 dne u umělého výtěru a 7 dnů u výtěru poloumělého (tab. 5). Tato délka inkubace byla mírně delší oproti inkubaci jiker ve vzorcích, protože jikry při masové inkubaci byly inkubovány při mírně nižší teplotě vody (o 0,4 °C), než byla teplota vody při inkubaci jiker ve vzorcích.

Po ukončeném líhnutí embryí v rámci masové inkubace jiker byla zjištěna opět vyšší průměrná líhivost embryí po provedených poloumělých výtěrech ($68,0 \pm 7,5$ %) oproti líhivosti embryí po umělých výtěrech ($55,0 \pm 9,5$ %) (tab. 5). Obě hodnoty líhivosti embryí při masové inkubaci jiker byly nižší než hodnoty líhivosti ve vzorcích. Masová inkubace jiker je totiž obtížnější, dochází při ní k vyšším ztrátám na inkubovaných jikrách z důvodu horších hygienických podmínek při jejich inkubaci.

Tab. 5. Délka inkubace a líhivost embryí u masové umělé inkubace jiker po umělém a poloumělém výtěru.

Ukazatel	Umělý výtěr	Poloumělý výtěr
Délka inkubace (dny)	$7,5 \pm 1,5$	$7,0 \pm 1,0$
Délka inkubace (hodiny)	$180,0 \pm 36,0$	$168,0 \pm 24,0$
Délka inkubace (°d)	$120,0 \pm 24,0$	$112,0 \pm 16,0$
Líhivost embryí (%)	$55,0 \pm 9,5$	$68,0 \pm 7,5$



Obr. 15. Embrya okouna říčního v jikře těsně před vylhnutím.

4.6. Masové líhnutí a produkce embryí k následnému chovu

4.6.1. Technologický postup

Inkubace jiker v jednotlivých košičkách byla postupně ukončena líhnutím embryí. Na konci masové inkubace byly jednotlivé jikrné provazce rozrušovány třepáním s košíčky i s jikrnými provazci, čímž došlo k uvolňování embryí z jikrných obalů. Poté byla embrya ze žlabů odsávána do kolíbek s jemnou síťovinou (průměr ok 300 μm) (obr. 16) a odtud přenesena do vaniček s čistou vodou z líhně (obr. 17). Množství vylihnutých embryí bylo poté počítáno objemovou metodou, kdy embrya byla zhuštěna ve vodním prostředí na deset litrů. V tomto omezeném objemu vody byla embrya rozmíchána a poté bylo odebráno pět dílčích vzorků embryí, každý o objemu 10 ml. V jednotlivých vzorcích byla embrya spočítána. Z pěti vzorků bylo vypočítané průměrné množství embryí na 10 ml. Zjištěný průměrný počet embryí byl vynásoben 1 000, čímž byl zjištěn počet embryí v objemu 10 l. Po zjištění celkového množství získaných embryí byla vypočítána celková líhnavost embryí v rámci masové umělé inkubace jiker (celkový počet všech získaných embryí se vydělil počtem všech nasazených oplozených jiker a poté se zjištěné číslo vynásobilo 100).



Obr. 16 a 17. Odsávání vylihnutých embryí z nádrže do kolíčky (vlevo) a přenesení embryí do vaničky k počítání jejich produkce (vpravo).

4.6.2. Výsledky

Na konci masové inkubace jiker bylo celkem získáno ze všech vytřených jikernaček v rámci obou způsobů výtěru 1 930 000 embryí. Z poloumělých výtěrů bylo získáno 1 134 000 embryí, což představuje 59 % z celkové produkce embryí. Z umělých výtěrů

bylo získáno celkem 796 000 embryí, což představuje 41 % z celkové produkce embryí. **Z hlediska celkové produkce embryí jsou efektivnější výtěry poloumělé oproti umělým**, což je způsobeno především **vyšší oplozeností jiker a vyšší líhivostí embryí**. Zdá se, že nižší oplozenost jiker a nižší líhivost embryí je u umělých výtěrů především způsobena procesem umělého oplození jiker.

4.7. Mortalita generačních ryb při výtěrovém období a po něm

4.7.1. Technologický postup

Mortalita obou pohlaví generačních ryb byla sledována ve výtěrovém období, následně 7 dní a 90 dní po výtěru. Mortalita ryb při výtěrovém období zahrnovala úhyn ryb od hormonální injekce až po vlastní výtěr. Mortalita ryb byla vyhodnocena v závislosti na způsobu výtěru. Po výtěru byla každá vytřená ryba ošetřena protiplísňovou koupelí v roztoku manganistanu draselného ($0,1 \text{ g.l}^{-1}$) (obr. 18). Po této koupeli byly ryby vysazovány do gumotextilního vaku, kam byly postupně také nasazovány krmné ryby (střevlička východní) v poměru 1 kg okouna a 2 kg střevličky. V tomto vaku byly generační ryby drženy 7 dní po výtěru poslední generační ryby – což umožnilo vyhodnotit mortalitu generačních ryb 7 dní po výtěrovém období (obr. 19). Následně byly všechny přeživší generační ryby vysazeny do experimentálního rybníka s výměrou 0,16 ha, kam byla předem vysazena krmná ryba – střevlička východní (při stejné hustotě jako v předchozích případech nasazení). Po 90 dnech po výtěru byl experimentální rybník sloven. Po výlovu byly přeživší ryby rozděleny na mlíčáky a jikernačky použité k umělému a poloumělému výtěru, a tak bylo stanoveno přežití generačních ryb obou pohlaví 90 dní po jejich výtěru.



Obr. 18 a 19. Koupel generačních ryb v roztoku manganistanu draselného po výtěru (vlevo) a kontrola přežití generačních ryb 7 dní po výtěrovém období (vpravo).

4.7.2. Výsledky

Mortalitu generačních ryb obojího pohlaví v průběhu výtěrového období, 7 a 90 dní po tomto období shrnuje tab. 6. V průběhu výtěrového období byla zjištěna 15–17% mortalita u generačních jikernaček v rámci umělého a poloumělého výtěru. U mlíčáků byla během umělého výtěru zjištěna nulová mortalita a u poloumělého výtěru byla mortalita 8%.

Po výtěrovém období se mortalita generačních ryb výrazně zvýšila. U jikernaček uhynulo 7 dní po výtěrovém období celkem 68 % ryb u obou způsobů výtěru. U generačních mlíčáků uhynulo v tomto období po výtěru 22 % mlíčáků u umělého výtěru a 8 % mlíčáků u poloumělého výtěru.

Po 90 dnech po výtěrovém období bylo zjištěno, že celkem uhynulo 98 % jikernaček bez ohledu na způsob výtěru. U mlíčáků v tomto období byla také zjištěna poměrně velká mortalita (92 % u umělého výtěru a 85 % u poloumělého výtěru).

Z těchto údajů je zřejmé, že většina generačních ryb okouna říčního hyne jak po umělém tak, i po poloumělém výtěru. V rámci umělé reprodukce tohoto druhu není reálné plánovat opakované využití generačních ryb obojího pohlaví. Podle našich zkušeností je z hlediska efektivity chovu výhodné, vytřené generační ryby ihned či 7 dní po výtěru zabít a jatečně zpracovat. Jestliže tímto způsobem generační ryby nevyužijeme, dochází podle našich zkušeností ke ztrátě většiny generačních ryb.

Tab. 6. Kumulativní mortalita generačních jikernaček a mlíčáků (%) při výtěrovém období a 7 a 90 dní po výtěrovém období u umělého a poloumělého výtěru.

Ukazatel	Umělý výtěr	Poloumělý výtěr
Kumulativní mortalita jikernaček (%)		
• při výtěrovém období	15	17
• 7 dní po výtěrovém období	68	68
• 90 dní po výtěrovém období	98	98
Kumulativní mortalita mlíčáků (%)		
• při výtěrovém období	0	8
• 7 dní po výtěrovém období	22	8
• 90 dní po výtěrovém období	92	85

5. EKONOMICKÝ PŘÍNOS TECHNOLOGIE PRO PODNIKATELSKÝ SUBJEKT

Popsaná technologie masové produkce kvalitních embryí okouna říčního umožní rybářskému podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. v budoucnosti produkovat **každoročně několik miliónů embryí s minimálními náklady na jejich produkci**. Dále tento technologický postup zajistí masovou produkci **embryí okouna stejného stáří**, což se pozitivně projeví při odchovu larev a juvenilních ryb v rybnících. Stejně staré ryby budou při dostatku potravy v rybnících minimálně rozrostlé, čímž se minimalizuje kanibalismus mezi odchovávanými rybami a zvýší se efektivita chovu juvenilních a následně starších kategorií ryb okouna říčního.

Cílem tohoto technologického postupu je vyprodukovat kvalitní a životaschopná embrya okouna říčního, která se budou dále odchovávat v produkčních rybnících ve tří až čtyřletém produkčním cyklu. Tak se zvýší roční produkce tržního okouna ve zmíněném rybářském podniku. Současně se v jeho produkčních rybnících eliminuje výskyt méně cenných rybích druhů, a tak se zvýší produkce hlavní tržní ryby – kapra obecného v produkčních rybnících.

Přesné vyčíslení ekonomického přínosu realizace tohoto technologického postupu je velmi obtížné, ale odhadujeme, že při plné realizaci tohoto technologického postupu může rybářský podnik Rybářství Nové Hradky s.r.o. ročně získat až několik desítek tisíc Kč.

6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE VE VÝROBĚ PODNIKATELSKÉHO SUBJEKTU

Popsaný a v provozních podmínkách ověřený technologický postup masové produkce kvalitních embryí okouna říčního byl a bude v budoucnu uplatňován v produkčním podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. Realizací tohoto technologického postupu v praxi v dalších letech bude získána vyrovnaná a kvalitní produkce embryí, larev, juvenilních, tržních a generačních ryb tohoto druhu za účelem další produkce ryb či dalšího prodeje ryb.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abdulfatah, A., Fontaine, P., Marie, M., 2008. Effects of photothermal kinetic, photoperiod amplitude and duration on the rates of out-of-season spawning and egg fertilization in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds), Percid Fish Culture – From Research to Production, Proceeding of abstracts and short communications of the workshop, Namur, Belgium, pp. 92–93.
- Abi-Ayad, S.M., Mélard, C., Kestemont, P., 1995. Effects of n-3 fatty acid in broodstock diet on survival of European perch (*Perca fluviatilis*) larvae after stress tests:

- osmotic shock and starving. In: Lavens, P., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larví'95, Fish and Shellfish Larviculture Symposium. EAS Spec. Publ., No. 24, pp. 12–15.
- AbiAyad, S.M., Mélard, C., Kestemont, P., 1997. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquaculture International* 5: 161–168.
- Adámek, Z., Helešic, J., Maršálek, B., Rulík, M., 2010. Aplikovaná hydrobiologie (2. rozšířené upravené vydání), FROV JU, Vodňany, 350 s.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozák, P., Pšenička, M., Linhart, O., 2007. Semen of *Perca fluviatilis* L.: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. *Theriogenology* 68: 276–283.
- Ashe, D.A., 1997. Cultivating perch. *Aquaculture explained*. Special publication BIM, No. 20, Dublin, Ireland, 47 pp.
- Bláha, M., 2006. Potravní biologie plůdku okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.) v rybničním chovu. Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice, 65 s.
- Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ramseyer, L., Culver, D., Kestemont, P., 1994. Effect of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture* 120: 171–180.
- FAO, 2011a. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service – 04/07/2011. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en>.
- FAO, 2011b. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service – 04/07/2011. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>.
- Fiogbe, E.D., Kestemont, P., 2003. Optimum daily ratio for Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared at its optimum growing temperature. *Aquaculture* 216: 234–252.
- Fiogbé, E.D., Kestemont, P., Mélard, C., Micha, J.C., 1996. The effects of dietary crude protein on growth of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 144: 239–249.
- Flajšhans, M., Göndör, R., 1989. Umělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). *Bulletin VÚRH Vodňany* 25: 10–13.
- Fontaine, P., Gardeur, J.N., Kestemont, P., Georges, A., 1997. Influence of feeding level on growth, intraspecific weight variability and sexual growth dimorphism of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared in a recirculation system. *Aquaculture* 157: 1–9.
- Fontaine, P., Kestemont, P., Mélard, C., 2008. Broodstock management. In: Rougeot, C., Torner, D. (Eds), *Farming of Eurasian Perch*, Special publication BIM, No. 24, Dublin, Ireland, pp. 16–22.
- Hamáčková, J., Sedova, M.A., Pjanova, S.V., Lepičová, A., 2001. The effect of 2-Pheoxyethanol, clove oil and Propiscin anaesthetics on perch (*Perca fluviatilis*) in relation to water temperature. *Czech Journal of Animal Science* 46: 469–473.

- Jansen, H., Fontaine, P., 2008. Recent improvements in the control of the percid reproductive cycle. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds), Percid Fish Culture – From Research to Production, Proceeding of abstracts and short communications of the workshop, Namur, Belgium, pp. 19–22.
- Kayes, T.B., Calbert, H.A., 1979. Effects of photoperiod and temperature on the spawning of yellow perch (*Perca flavescens*). Proceedings of World Mariculture Society 10, pp. 306–316.
- Kestemont, P., Mélard, C., 2000. Chapter 11 – Aquaculture. In: Craig, J.F. (Ed.), Percids Fishes – Systematic, Ecology and Exploitation. Fish and Aquatic Resources series 3, Blackwell Sciences, pp. 191–224.
- Kestemont, P., Mélard, C., Fiogbé, E., Vlavonou, R., Masson, G., 1996. Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Journal of Applied Ichthyology 12: 157–166.
- Kestemont, P., Vandeloise, E., Mélard, C., Fontaine, P., Brown, P.B., 2001. Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. Aquaculture 203: 85–99.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., Mélard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuvier, A., Kentouri, M., Baras, E., 2003. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. Aquaculture 227: 333–356.
- Kestemont, P., Rougeot, C., Musil, J., Toner, D., 2008. Larval and Juvenile Production. In: Rougeot, C., Torner, D. (Eds), Farming of Eurasian Perch. Special publication BIM, No. 24, Dublin, Ireland, pp. 30–41.
- Kouřil, J., Linhart, O., 1997. Temperature effect on hormonally induced spawning in perch (*Perca fluviatilis*). Polish Archives of Hydrobiology 44: 197–202.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1999. Artificial of perch propagation of European perch (*Perca fluviatilis* L.) by means of a GnRH analogue. Czech Journal of Animal Science 44: 309–316.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 2000. The semiartificial and artificial hormonally induced propagation of European perch (*Perca fluviatilis*). In: Floss, R., Creswell, L. (Eds), Proc. Aqua 2000. Responsible aquaculture in the new millennium, Special Publication, No. 28, E.A. S., Oostende, Belgium, 345 pp.
- Kouřil, J., Linhart, O., Relot, P., 1997. Induced spawning of perch, *Perca fluviatilis* L., by means of a GnRH analogue. Aquaculture International 5: 375–377.
- Kouřil, J., Linhart, O., Hamáčková, J., 1998. Optimalizace dávek analogu GnRH a teploty vody při hormonálně indukovaném poloumělém a umělém výtěru okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Bulletin VÚRH Vodňany 34: 137–149.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Lepič, P., Mareš, J., 2001. Poloumělý a umělý výtěr okouna říčního. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 68, 11 s.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E., 1996. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L. using carp pituitary extract and HCG. Aquaculture Research 27: 847–852.

- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., 1998. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using FSH + LH with pimozide or metoclopramide. *Aquaculture Research* 29: 131–136.
- Mathis, N., Feidt, C., Brun-Bellut, J., 2003. Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture* 217: 453–464.
- Mélard, C., Kestemont, P., Grignard, J.C., 1996. Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*Perca fluviatilis*): Effect of major biotic and abiotic factors on growth. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 175–180.
- Policar, T., Kouřil, J., Hamáčková, J., 2008a. Induced artificial and semiartificial spawning by Supergestran in perch (*Perca fluviatilis* L.) under different temperature. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds), *Percid Fish Culture – From Research to Production*. Namur, Belgium, pp. 124–125.
- Policar, T., Kouřil, J., Stejskal, V., Hamáčková, J., 2008b. Induced ovulation of perch (*Perca fluviatilis* L.) by preparations containing GnRH α with and without metoclopramide. *Cybium* 32: 308.
- Policar, T., Toner, D., Alavi, S.M.H., Linhart, O., 2008c. Reproduction and Spawning. In: Rougeot, C., Toner, D. (Eds), *Farming of Eurasian Perch*, Special publication BIM, No. 24, Dublin, Ireland, pp. 22–29.
- Policar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S.M.H., Kouřil, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). *Edice Metodik (Technologická řada)*, FROV JU, Vodňany, č. 89, 51 s.
- Rougeot, C., Fontaine, P., Mandiki, S.M.N., 2008. Perch description and biology. In: Rougeot, C., Toner, D. (Eds), *Farming of Eurasian Perch*. Special publication BIM, No. 24, Dublin, Ireland, pp. 12–15.
- Stejskal, V., Policar, T., Bláha, M., Křišťan, J., 2010. Produkce tržního okouna říčního (*Perca fluviatilis*) kombinací rybničního a intenzivního chovu. *Edice Metodik (Technologická řada)*, FROV JU, Vodňany, č. 105, 34 s.
- Watson, L., 2008. The European market for perch (*Perca fluviatilis*). In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds), *Percid Fish Culture – From Research to Production*, Proceeding of abstracts and short communications of the workshop, Namur, Belgium, pp. 10–14.
- West, G., Leonard, J., 1978. Culture of yellow perch with emphasis on development of eggs and fry. In: Kendal, R.L. (Ed.), *Selected coolwater fishes of North America*. American Fisheries Society 11, Washington, D.C., pp. 172–176.
- Xu, X., Fontaine, P., Mélard, C., Kestemont, P., 2001. Effects of dietary fat levels on growth, feed efficiency and biochemical compositions of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture International* 9: 437–449.
- Xu, X., Kestemont, P., 2002. Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. *Lipids* 37: 297–304.

ODBORNÝ EXTERNÍ OPONENT

RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Studentská 13
370 05 České Budějovice*

ODBORNÝ INTERNÍ OPONENT

Ing. Jan Turek, Ph.D.

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

Ověření a uplatnění technologie 2011, Rybářství Nové Hrady s.r.o., 374 01 Nové Hrady-Štipton 78

Adresa autorského kolektivu

*doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D., M.Sc. S.M. Hadi Alavi, Ph.D., Ing. Vlastimil Stejskal,
Ph.D., Ing. Jiří Křížtan, prof. Ing. Jan Kouril, Ph.D.*

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum
akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, 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
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 978-80-87437-35-3