



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Inovovaná technologie řízené reprodukce kapra obecného

D. Gela, V. Kašpar, M. Rodina, O. Linhart





Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Inovovaná technologie řízené reprodukce kapra obecného

D. Gela, V. Kašpar, M. Rodina, O. Linhart

Vodňany, 2025

Vydání publikace bylo uskutečněno za finanční podpory:

Výsledky byly získány za finanční podpory Ministerstva zemědělství České republiky projekt Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) č. QK21010141 Management gamet a reprodukce při ochraně genetických zdrojů a šlechtitelském programu kapra obecného v podmínkách akvakultury ČR – 100%.



č. 212

ISBN 978-80-7514-232-0

1.	ÚVOD DO PROBLEMATIKY	7
1.1.	Kontrolovaná (umělá) reprodukce kapra	8
1.2.	Řízená reprodukce jako nástroj šlechtění kapra	8
2.	CÍL	12
3.	MÍSTO OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE	12
4.	POPIS TECHNOLOGIE A VÝSLEDKY	13
4.1.	Anestezie ryb	13
4.2.	Hormonální stimulace a synchronizace výtěru ryb	14
4.3.	Tradiční provozní výtěr samic a samců	18
4.4.	Výtěr samců před výtěrem samic s krátkodobým uchováním spermatu po dobu maximálně dvou dnů	20
4.5.	Výtěr samců před výtěrem samic s krátkodobým uchováním spermatu po dobu do jednoho měsíce	24
4.6.	Kontrola pohyblivosti spermií, osemenění, aktivace a oplození jiker	27
4.7.	Odlepkování jiker	29
4.8.	Inkubace jiker, líhnutí a rozplavání váčkového plůdku	30
4.9.	Expedice váčkového plůdku	32
4.10.	Možné epigenetické změny v závislosti na době stárnutí spermií	34
5.	EKONOMICKÝ PŘÍNOS	34
6.	UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI	36
7.	SEZNAM LITERATURY	36
8.	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	40
9.	PŘÍLOHY	41

1. Úvod do problematiky

Kapr obecný (*Cyprinus carpio*, *Cyprinus rubrofasciatus*) patří mezi nejvýznamnější druhy sladkovodních ryb, a to nejen v České republice, ale také na celosvětové úrovni. Díky své vysoké ekologické přizpůsobivosti, rychlému růstu a nízkým nárokům na kvalitu prostředí se stal klíčovým druhem v systémech intenzivního i extenzivního chovu. Umělá reprodukce kapra představuje základní biologický proces, který je nezbytný nejen pro přirozenou obnovu populací, ale také pro efektivní řízení produkce v rámci moderního rybníkářství nejen v ČR. Rozmnožování kapra obecného je úzce závislé na teplotních a dalších environmentálních podmínkách vodního prostředí. V přirozených podmínkách ve střední Evropě probíhá tření sezónně, obvykle od konce dubna do začátku června, kdy teplota vody dosahuje optimálních hodnot v rozmezí 18 až 21 °C. Pohlavní dospělosti dosahují samci (mlíčáci) zpravidla ve věku 2–3 let, zatímco samice (jikernaček) obvykle až ve věku 3–4 let, v závislosti na podmínkách chovu a výživě. Reprodukční cyklus zahrnuje jak vnitřní fyziologické změny v organismu ryb, tak specifické behaviorální projevy, které souvisejí s výběrem vhodného třecího substrátu a uvolněním pohlavních buněk (gamet). V současné rybníkářské praxi ČR je však rozmnožování kapra obecného realizováno téměř výhradně uměle, a to v kontrolovaných podmínkách líhní. K vyvolání ovulace a spermiace se standardně používá hormonální stimulace, která umožňuje načasovat a synchronizovat zrání pohlavních produktů a provést umělou reprodukci efektivně a s vysokou mírou kontroly (Gela a kol., 2009).

Produkce tržních ryb kapra obecného v ČR se v posledním desetiletí udržuje na stabilní úrovni přibližně sedmnácti tisíc tun ročně, jak uvádí Rybníkářské sdružení České republiky ve zprávě z roku 2024 (web RS ČR, 2025). Kapr tak zůstává nejvýznamnějším hospodářským druhem v tuzemské rybníkářské produkci. Také celosvětové údaje potvrzují jeho dlouhodobě rostoucí význam. Podle statistiky Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) vzrostla globální produkce kapra obecného z přibližně 1,2 milionu tun v roce 1990 na více než 4,4 milionu tun v roce 2020 (FAO, 2022). Většina této produkce pochází z akvakulturních chovů (Shazada a kol., 2023). Kapr je v současnosti čtvrtým až pátým nejčastěji produkovaným druhem ryb v celosvětové akvakultuře, zejména v Asii. Před ním se umísťují další druhy z čeledi karpovitých, konkrétně amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*) a tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Raftowicz, 2022).

1.1. Kontrolovaná (umělá) reprodukce kapra

Kontrolovaná reprodukce kapra obecného byla zahájena v 50. letech 20. století, kdy došlo k zavedení praktického využití technologií umělé reprodukce (Woynarovich, 1962). Základní i aplikovaný výzkum se následně zaměřil na spermie kapra (Billard a kol., 1986, 1995), jikry a oplození (Linhart a kol., 1995), endokrinní řízení gametogeneze a indukci výtěru (Yaron a kol., 1995) a umělé osemenění (Saad a Billard, 1987; Billard a kol., 1995; Linhart a kol., 2015).

Postup umělého osemenění, oplození a inkubace jiker poprvé navrhl Woynarovich (1962). Základem této technologie byl roztok obsahující 4 g NaCl a 3 g močoviny na jeden litr vody. Tento roztok nejprve aktivoval gamety a následně odstraňoval lepivost jiker pomocí nepřetržitého míchání po dobu 1,5 hodiny. Nakonec byly jikry ošetřeny tříslovinou (taninem) po dobu 20 s. Jelikož bylo míchání časově náročné, byla technika později vylepšena (Woynarovich a Woynarovich, 1980) použitím účinnějšího roztoku pro odstranění lepivosti – 4 g NaCl a 20 g močoviny na litr vody. Další zlepšení publikoval Soin (1976), který zjistil, že mléko je velmi účinným prostředkem pro odstranění lepivosti jiker. Khan a kol. (1986) uvedli, že plnotučné sušené mléko v koncentraci 20–25 g.l⁻¹ bylo nejúčinnější při odstraňování lepivosti jiker a zároveň poskytovalo lepší výsledky z hlediska oplozovací úspěšnosti a líhivosti ve srovnání s metodami dle Woynaroviche. V současnosti se v ČR a na největších líhních ve střední Evropě, které ročně produkují stovky milionů váčkového plůdku, používá právě sušené nebo čerstvé plnotučné (min. 3,5 % tuku) mléko k odstranění lepivosti. Zhruba tři minuty po oplodnění jsou jikry přeneseny do Zugských lahví naplněných mlékem, kde jsou po dobu 60 minut jemně promíchávány pomocí bublinek stlačeného vzduchu. Poté je do lahví přivedena proudící voda, která během 10 minut mléko zcela nahradí (Gela a kol., 2009).

1.2. Řízená reprodukce jako nástroj šlechtění kapra

Řízení reprodukce kapra obecného vedlo ke vzniku mnoha linií a plemen se specifickými vlastnostmi, jako je rychlost růstu, odolnost vůči chorobám a tolerance vůči chladu (Hulata 1995; Kocour a kol., 2007, 2008; Prchal a kol., 2021). Data týkající se reprodukčních parametrů samců a samic jednotlivých plemen kapra obecného chovaných v České republice v letech 2003–2018 ukazují rozdíly v množství gamet mezi jednotlivými plemeny (tab. 1), což je důležité zohlednit při vývoji udržitelného akvakulturního chovu kapra obecného (Shazada a kol., 2023). V akvakultuře je rozvoj metod umělé reprodukce

klíčovým nástrojem pro řízení šlechtění, jako je křížení a zejména pak selekční šlechtění (Prchal a kol., 2021). V tomto kontextu je kvalita spermatu a vajíček základním předpokladem pro úspěšné oplození při produkci váčkového plůdku (Billard a kol., 1995; Linhart a kol., 1995). Kvalitu gamet ovlivňují jak rodičovské faktory (zdravotní stav, genotyp, věk a výživa), tak i faktory prostředí (teplota a cirkadiánní rytmus) a rovněž manipulace se zvířaty (hormonální stimulace konečného dozrávání gamet a stres) (Yaron 1995; Alavi a kol., 2008). U samců mohou kvalitu spermatu negativně ovlivnit například opakované umělé výtěry a s tím spojená manipulace nebo kontaminace spermatu při samotném odběru výkalů nebo moči (Billard a kol., 1995; Kowalski a Cejko, 2019).

Životaschopnost a kinetika pohybu spermií, včetně procenta pohyblivých spermií a jejich rychlosti, jsou určujícími faktory pro úspěšnost oplození (Linhart a kol., 2005; Kašpar a kol., 2007). Tyto vlastnosti ovlivňuje teplota prostředí, pH, iontové složení a osmolalita. Také poměr spermií k vajíčkům je důležitým faktorem oplození (Redondo-Muller a kol., 1991; Linhart a kol., 2015). Předpokládá se, že výkonnost potomstva je výsledkem genetické a epigenetické informace spermií, protože tyto přenášejí rodičovský genom do zygoty (Zhang a kol., 2023a; Cheng a kol., 2024, 2025). Otázka, které se zatím věnuje jen malá pozornost, je, zda rozdíly v reprodukční výkonnosti mezi liniemi nebo plemeny kapra obecného mohou ovlivnit výkonnost potomstva prostřednictvím epigenetických mechanismů.

V akvakultuře je krátkodobé uchovávání rybiho spermatu běžnou a široce využívanou praxí, která rybářům přináší řadu výhod při umělé reprodukci ekonomicky významných i ohrožených druhů. Umožňuje uchování spermatu po dobu několika hodin až dní při nízkých teplotách, přičemž si spermie udržují schopnost pohybu i oplození (Bobe a Labbe, 2009; Shazada a kol., 2023). Nativní sperma může být naředěno pomocí extendoru, případně s přidavkem antibiotik a antioxidantů nebo bez nich. Krátkodobé uchování se aplikuje za účelem synchronizace dostupnosti gamet, náhrady chybějících samců při jejich omezené dostupnosti a rovněž pro účely transportu genetického materiálu. Tento postup nachází uplatnění například při genetickém obohacení populace zvýšením její heterozygotnosti (osvěžení krve), realizaci šlechtitelských programů (křížení, selekce) či provedení kontrolních křížení za účelem ověření užitkových vlastností atd. Během této doby však spermie stárnou a podléhají tak fenotypovým, fyziologickým, genetickým i epigenetickým změnám, které mohou negativně ovlivnit jejich oplození schopnost a následně i výkonnost potomstva (Saad a kol., 1988; Contreras a kol., 2020; Zhang a kol., 2023a; Cheng a kol., 2025).

Tab. 1. Reprodukční ukazatele samců a samic jednotlivých plemen kapra obecného chovaných v České republice. Data byla získána v letech 2003–2018 na líně Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech (Shazada a kol., 2023). Relativní hodnoty vyjadřují daný ukazatel na 1 kg živé hmotnosti ryby (před výtěrem) (SO – směrodatná odchylka).

Zkratky označují jednotlivé linie kapra obecného: AC – amurský divoký kapr; AMP/AMV – amurský lysec (linie Pohořelice/Vodňany); C434 – syntetická populace lysec; DOR – izraelský lysec Dor 70; HSM – maďarský syntetický lysec; L15/M2 – maďarský lysec (linie L15/M2); M72 – severský lysec; ML – šupináč Mariánské Lázně; PoM – pohořelický lysec; PS – přerovský šupináč; ROP – ropšínský kapr; TAT – maďarský kapr Tata; TeM – telčský lysec; TS – třebaňský šupináč

Samci	Hmotnost ryby (kg)			Koncentrace spermií ($\times 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$)			Celkový objem spermatu (ml)			Objem spermatu na kg hmotnosti ryby ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)			Celkový počet spermií ($\times 10^9$) na samce			Počet spermií na kg hmotnosti ryby ($\times 10^9 \cdot \text{kg}^{-1}$)		
	Průměr	SO	n	Průměr	SO	n	Průměr	SO	n	Průměr	SO	n	Průměr	SO	n	Průměr	SO	n
AC	4,6	0,7	28	15,7	1,8	28	25,4	10,5	28	5,5	1,9	28	395,9	163,9	28	85,6	31,0	28
AMP	3,9	1,5	51	13,9	2,7	51	21,0	8,7	51	6,3	3,7	51	289,5	128,0	51	89,0	56,6	51
AMV	4,3	2,2	80	11,3	3,5	64	27,5	23,6	80	5,8	3,5	80	351,3	225,2	64	68,4	36,6	64
C434	9,5	2,3	26	16,4	2,7	26	31,1	14,1	26	3,6	1,9	26	500,9	213,1	26	57,4	28,6	26
DOR	4,3	0,7	24	14,6	2,3	24	19,7	7,1	24	4,6	1,3	24	285,7	110,7	24	66,8	20,0	24
HSM	4,8	1,2	21	8,4	2,3	19	23,8	13,3	21	4,9	1,9	21	185,0	76,5	19	40,1	18,3	19
L15	4,4	0,9	25	10,0	2,9	25	24,7	9,8	25	5,8	2,7	25	237,2	108,5	25	55,7	27,8	25
M2	8,3	1,6	78	15,7	2,7	77	30,7	15,0	78	3,8	2,0	78	472,5	236,9	77	59,4	33,0	77
M72	5,5	2,3	160	15,8	4,2	163	28,7	17,1	180	5,4	3,6	160	430,7	266,1	143	84,2	57,2	143
ML	6,5	1,4	45	19,6	6,4	45	24,9	11,1	45	3,9	1,6	45	476,3	236,5	45	77,7	46,2	45
PoM	5,3	1,0	25	14,7	2,9	25	38,2	13,6	25	7,3	2,5	25	573,5	258,8	25	109,5	46,2	25
PS	3,8	0,3	20	16,8	3,7	20	41,9	12,5	20	11,1	3,5	20	684,8	198,0	20	181,1	50,2	20
ROP	5,4	0,9	24	19,4	4,3	44	42,2	18,9	44	8,8	4,1	24	803,3	362,4	24	148,6	62,5	24
TAT	7,6	3,0	138	14,8	4,1	158	34,7	21,6	158	5,9	4,2	138	541,2	360,6	138	83,1	66,1	138
TeM	6,5	2,4	16	7,9	5,1	14	20,1	9,6	16	3,2	1,5	16	143,2	78,2	14	23,2	11,9	14
TS	2,3	0,2	24	11,8	2,8	24	23,9	7,1	24	10,6	3,2	24	284,6	117,6	24	126,3	53,6	24
Celkem	5,4	1,4	785	14,2	3,4	807	28,7	13,4	845	6,0	2,7	785	416,0	196,3	747	84,8	40,4	747

Samice	Hmotnost ryby (kg)				Počet jiker v gramu				Počet jiker v ml				Celkový počet jiker od samice				Počet jiker na kg hmotnosti ryby			
	Průměr	SO	n		Průměr	SO	n		Průměr	SO	n		Průměr	SO	n		Průměr	SO	n	
AC	7,1	1,4	13		509	28	13		564	201	13		288 282	103 031	13		41 087	13 598	13	
HSM	7,0	2,4	11		758	142	11		439	345	11		357 229	291 926	11		62 784	59 599	11	
M2	9,1	2,3	67		653	82	67		1085	599	67		727 134	426 798	67		81 083	44 657	67	
PoM	6,0	1,0	16		621	102	16		832	334	16		510 975	204 596	16		86 344	30 788	16	
ROP	5,8	1,3	65		610	98	65		799	404	65		501 915	282 010	65		85 705	41 474	65	
TS	3,0	0,4	20		849	106	20		181	70	20		155 354	64 664	20		50 162	15 693	20	
Celkem	6,3	1,5	192		667	93	192		650	326	192		423 482	228 838	192		67 861	34 302	192	

2. Cíl

Cílem této technologie je doplnit stávající metodiku reprodukce kapra obecného, publikovanou Gelou a kol. (2009), o nejnovější poznatky získané v rámci řešení výzkumného projektu NAZV č. QK21010141. V průběhu tohoto projektu byly realizovány cílené experimenty zaměřené na optimalizaci klíčových fází umělé reprodukce, zejména v oblasti krátkodobého uchovávání spermatu, stárnutí spermatu a jeho využití v provozních podmínkách rybářských líhní v České republice. Veškeré navržené technologie a pracovní postupy byly důkladně ověřeny v provozních podmínkách a posouzeny z hlediska jejich technické proveditelnosti, reprodukovatelnosti výsledků a praktické použitelnosti.

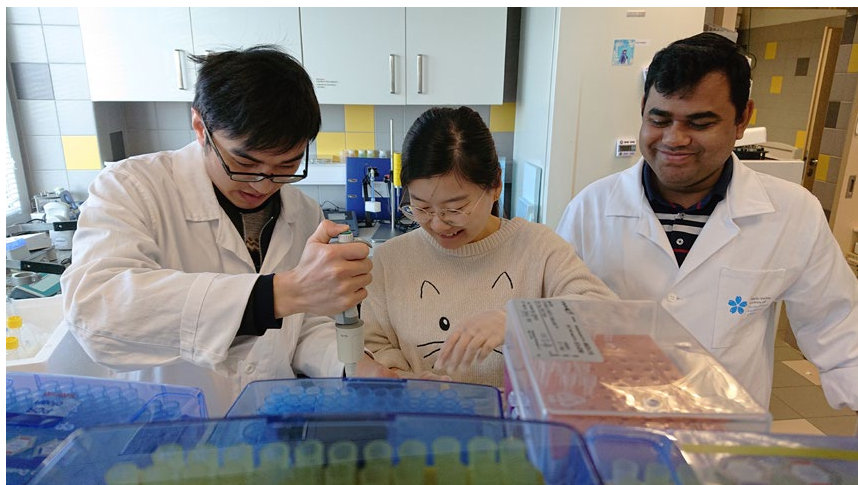
Na základě získaných experimentálních dat a provozních zkušeností lze konstatovat, že navržené inovace představují významný přínos pro rybářskou praxi. Rozšířená technologie je připravena k širokému zavedení do provozu a lze ji doporučit jako moderní a efektivní nástroj pro podporu reprodukce kapra v České republice.

3. Místo ověření technologie

Ověřování technologie bylo realizováno na dvou specializovaných pracovištích, Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a na Rybářství Nové Hradky s.r.o. Experimentální část výzkumu byla zaměřena na studium procesů stárnutí spermií kapra obecného během krátkodobého uchování *in vitro*. Tato fáze zahrnovala komplexní hodnocení biologických parametrů, počínaje motilitou spermií až po vícerozměrné omické analýzy (z angl. *multi-omics analysis*), které identifikovaly potenciální rizika spojená s využitím zestárlého spermatu na vývoj potomstva kapra po krátkodobém uchování. Experimenty byly realizovány v období let 2021–2025 v Laboratoři fyziologie reprodukce (Cheng a kol., 2021, 2022a, 2023, 2024, 2025; Zhang a kol., 2022, 2023a, 2024).

Na tyto laboratorní studie navazovalo provozní ověření technologie krátkodobého uchování spermatu, které zahrnovalo rovněž inovativní přístup k procesu odlepkování, a to v reálných podmínkách aplikovaného chovu a reprodukce kapra. Tato aplikační fáze probíhala v letech 2022–2025 v Genetickém rybářském centru a rovněž na Rybářství Nové Hradky s.r.o. Hlavní důraz byl kladen na hodnocení reprodukční úspěšnosti, konkrétně byly sledovány úrovně oplozenosti jiker a líhnivosti embryí. Zároveň byly posuzovány možnosti praktického začlenění technologie do provozních

podmínek komerčních rybích líhní v České republice (Cheng a kol., 2022b, 2025; Zhang a kol., 2023b; Shazada a kol., 2025; viz obr. 1).



Obr. 1. Práce v laboratoři při ředění spermatu kapra obecného pomocí kapřího extendoru. Zleva: doktorandi Songpei Zhang, Yu Cheng a Nururshopa Eskander Shazada v Laboratoři fyziologie reprodukce, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích (Foto: O. Linhart).

4. Popis technologie a výsledky

4.1. Anestezie ryb

Při kontrolované reprodukci kapra obecného je pro minimalizaci stresu a zajištění bezpečné manipulace s jedinci využívána anestezie. Nejčastěji se aplikují anestetika ve formě lázně, přičemž se doporučuje použití ověřených přípravků, jako je 2-fenoxyethanol (ethylenglykol-monofenylether; Merck spol. s.r.o.), hřebíčkový olej s účinnou látkou eugenol (Dr. Kulich Pharma, s.r.o.) nebo látka tricaine mesylate – MS-222. MS-222 je jediné registrované anestetikum pro ryby v některých státech Evropy, například ve Velké Británii a Švédsku. V České republice však registrováno není, a proto je k jeho dovozu a použití nezbytné získat souhlas Státní veterinární správy ČR. Anestetický roztok je připravován před zahájením manipulace se skupinou generačních ryb, a to ve zvláštní nádrži odpovídajících rozměrů. V praxi se jako nejvhodnější nádrž osvědčila rybářská kád' s výškou vodního sloupce 25–40 cm naplněná vodou z výchozí nádrže s generačními rybami. Po ponoření ryb do anestetické lázně je

nezbytné kontinuálně monitorovat reakce ryb, zejména v počáteční fázi účinku anestetika, kdy se často projevuje zvýšená motorická aktivita. Ta může vést např. k vyskočení ryb z nádrže. Vlastní anestezie snižuje riziko mechanického poškození ryb a ztráty pohlavních produktů, a tím zvyšuje bezpečnost následné manipulace. U uspávaných jedinců se během anestezie usiluje o dosažení stupně 3a–3b dle Kolářové a kol. (2007), charakterizovaného tím, že ryba po jemném převrácení na bok zůstává v této poloze, případně se vlivem gravitačních sil velmi pomalu navrácí do původní polohy.

Používané anestetické látky a jejich aplikace:

- **Hřebíčkový olej (eugenol):** Aplikuje se v koncentraci do 0,07 ml.l⁻¹. Pro zajištění rovnoměrného rozpuštění se 3–5 ml (maximálně 7 ml) koncentrovaného oleje předem rozpustí v 60 ml 96 % ethanolu a následně se vmíchá do 100 litrů temperované vody.
- **2-fenoxyethanol:** Standardně se používá v koncentraci 0,3–0,4 ml.l⁻¹ (Kolářová a kol., 2007).
- **MS-222:** Standardně se používá účinná dávka 25–100 mg.l⁻¹ (Topic Popovic a kol., 2012).

Při práci s anestetiky je nezbytné dodržovat zásady bezpečnosti práce, včetně použití vhodných osobních ochranných prostředků, zejména při přípravě koncentrovaných roztoků.

4.2. Hormonální stimulace a synchronizace výtěru ryb

Pro zajištění synchronizace výtěru samců a samic se využívá hormonální stimulace pomocí kapří hypofýzy nebo syntetických hormonálních přípravků, jako je Ovopel (Gela a kol., 2009). Hormonální látky se obecně aplikují při nasycení vody kyslíkem alespoň na úrovni 60 % na odtoku z bazénů, ve kterých jsou ryby umístěny. Nízká koncentrace rozpuštěného kyslíku může negativně ovlivnit spermiaci i ovulaci.

Stimulace samců

K hormonální stimulaci samců se nejčastěji používá jednorázová injekce suspenze kapří hypofýzy ve fyziologickém roztoku v dávce 0,7–1,5 mg hypofýzy na 1 kg živé hmotnosti, případně stejná dávka přípravku Ovopel. Individuální hmotnost ryb je třeba zjistit nejpozději před samotnou aplikací. Vzhledem k vysoké aktivitě ryb v období výtěru se však doporučuje provést vážení již při jejich výběru k reprodukci a tento údaj následně použít pro výpočet dávky.

Pokud jsou k reprodukci vybírány ryby přibližně stejné velikosti a hmotnosti ($\pm 0,5$ kg), je možné zjednodušit aplikaci tím, že se všem jedincům aplikuje stejná dávka, vypočtená podle průměrné hmotnosti. Objem injikované suspenze se pohybuje v rozmezí $0,2\text{--}1\text{ ml.kg}^{-1}$ živé hmotnosti. U menších ryb se aplikuje suspenze s nižší koncentrací hormonu (tj. vyšší objem suspenze), u větších ryb naopak suspenze s vyšší koncentrací (nižší objem na kg). Optimální spermiace (uvolnění spermatu) nastává při teplotě vody $19\text{--}21\text{ }^{\circ}\text{C}$ přibližně 24 hodin po aplikaci.

Stimulace samic

Stimulace samic se provádí dvěma injekcemi suspenze kapří hypofýzy a fyziologického roztoku (Gela kol., 2009):

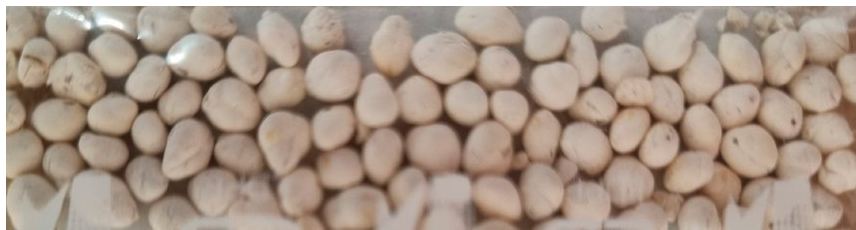
- První dávka: $0,5\text{ mg hypofýzy.kg}^{-1}$ živé hmotnosti, při teplotě vody $19,5\text{--}20,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Druhá dávka: $2,5\text{ mg hypofýzy.kg}^{-1}$, podaná 12 hodin po první, při teplotě vody $20,0\text{--}21\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Způsob vážení a výpočet dávky se shoduje s postupem u samců. K ovulaci jiker dochází přibližně 24 hodin po první dávce. Na dně přípravného bazénu nebo na vzduchovacích válcích lze často pozorovat nebo nahmatat samovolně ovulované jikry.

K vyvolání ovulace lze srovnatelně účinně použít také přípravek Ovopel (savčí GnRH analog + metoklopramid), a to v následujícím dávkování:

1. dávka: jedna peletka na 5 kg živé hmotnosti
2. dávka: jedna peletka na 1 kg živé hmotnosti

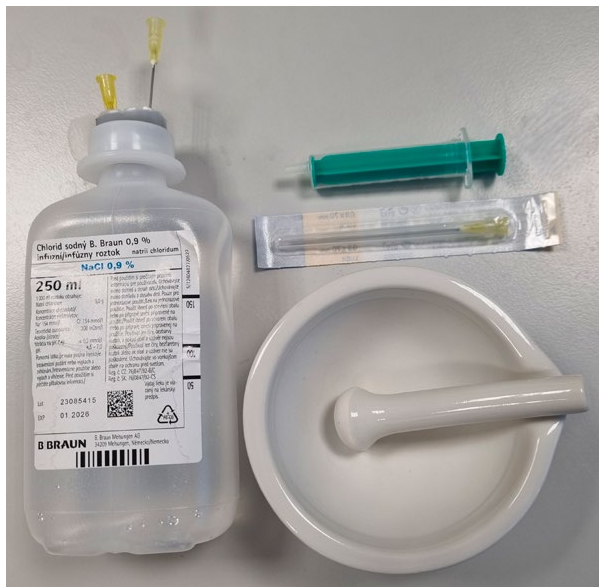
Načasování dávek a nástup ovulace odpovídají aplikaci hypofýzy. Objem suspenze (ať už s hypofýzou nebo Ovopelem) je vždy $0,2\text{--}1\text{ ml.kg}^{-1}$ živé hmotnosti. Kvalitní kapří hypofýza váží zpravidla 3 mg.peletka^{-1} . Čerstvá hypofýza má smetanově bílou barvu bez zažloutnutí (viz obr. 2). Skladování se doporučuje v suchu při teplotě $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Účinnost se zachovává 2–3 roky, poté výrazně klesá. Stejně podmínky platí i pro skladování Ovopelu. Pro dosažení optimálních výsledků se doporučuje používat každý rok čerstvé přípravky. Starší hypofýzu (z předchozí sezóny) lze využít pro injekci u samců. Hypofýzu je možné zakoupit ve zpracovnách ryb, např. na Klatovském rybářství a.s. Ovopel byl vyvinut v laboratoři prof. L. Horvátha na University of Agricultural Sciences, Institute of Animal Husbandry, Biotechnology Laboratory, Gödöllő, Maďarsko (Gela a kol., 2009) a distributorem přípravku je společnost Balázs Csorbai Interfish Kft. (www.ovopel.hu).



Obr. 2. Acetonovaná kapří hypofýza o průměrné hmotnosti 4,8 mg. Hypofýza světlé, smetanově bílé barvy bez vysokého zažloutnutí odpovídající dobrému kvalitativnímu stupni podle standardizace pro reprodukční účely (Foto: O. Linhart).

Příprava a aplikace suspenze

Suspenze se připravuje důkladným rozetřením hypofýzy nebo Ovipelu v suché třecí misce. Následně se postupně přidává přesně odměřené množství fyziologického roztoku (viz obr. 3). Příprava musí být pečlivá, aby nedocházelo k ucpávání injekční jehly a aby každá ryba obdržela odpovídající dávku hormonální látky dle své hmotnosti. Aplikace suspenze se provádí injekčně do hřbetní svaloviny za použití stříkačky (objem 2–5 ml) a dlouhé jehly. Stříkačka se rovnoměrně naplní předem důkladně rozmíchanou suspenzí. Jehla se zavádí pod úhlem 20–30° ve směru k hlavě (viz obr. 4). Intramuskulární aplikace se provádí v předepsaném objemu, přičemž je během podání stříkačka průběžně otáčena, aby nedocházelo k usazování suspenze. Po aplikaci je suspenze v místě vpichu rovnoměrně vmasírována do svaloviny. Jehla se ze svaloviny vytahuje až po dokončení celého postupu. Alternativně lze aplikaci provést do tělní dutiny nebo dokonce pomocí tenké jehly (např. pomocí inzulinové stříkačky) pod prsní ploutev – to je obvyklé zejména u okrasných KOI, kde vpich do hřbetu může vést ke ztrátě šupin a estetickému znehodnocení ryby. Při manipulaci s rybami je třeba maximální opatrnosti. Ryby se fixují na měkké podložce a místo vpichu se dezinfikuje (např. roztokem Betadine). Pro bezpečný přenos ryb se doporučuje použít speciální přelovovací rukáv.



Obr. 3. Pomůcky používané při hormonální stimulaci ryb: třecí miska s tloučkem pro přípravu suspenze a injekční stříkačka o objemu 5 ml s dlouhou jehlou pro aplikaci připravené suspenze do těla ryb (Foto: O. Linhart).



Obr. 4. Injekční aplikace hormonálního přípravku do hřbetní svaloviny kapra obecného (Foto: O. Linhart)

4.3. Tradiční provozní výtěr samic a samců

Jako první se provádí výtěr samic, přičemž na čerstvě získané jikry se bezprostředně vytírají připravení samci, jak popsali Gela a kol. (2009).

Postup při výtěru samic

Tento postup se uplatňuje především v provozních podmínkách, kdy jsou ovulující samice šetrně přeloženy do připravené lázně s anestetikem. Ovulace se zjišťuje individuálně – do anestetické lázně jsou zařazeny pouze ty ryby, u nichž dochází k samovolnému uvolňování jiker při mírném tlaku na břišní oblast. Samice, u kterých ovulace dosud nenastala, se vracejí zpět buď do původní části nádrže, nebo do oddělené části téhož bazénu pomocí přepážky, případně do jiné nádrže se stejnou kvalitou a teplotou vody. Neovulující samice je vhodné znovu kontrolovat s intervalem 1–2 hodin. Pokud ani po opakované kontrole k ovulaci nedojde, je tento stav zaznamenán do evidenčních záznamů. V případě opakované neúspěšné ovulace se takové samice zpravidla vyřazují z generačního hejna, případně jsou přesunuty do nádrže s již vytřenými rybami a po regeneraci vráceny do mateřského rybníka. Ryby nacházející se ve fázi anestézie stupně 3a–3b (Kolářová a kol., 2007), jsou šetrně otočeny hřbetem dolů a ručně (bez použití nářadí) vytaženy do mokrého, ale vyždímaného látkového vaku nebo velké utěrky. Při manipulaci je vhodné přidržovat močopohlavní papilu, aby nedocházelo k nežádoucímu úniku jiker.

Podle velikosti ryby jsou obvykle zapotřebí dvě osoby (viz obr. 6):

- U větších jedinců (> 5 kg) první pracovník sedí na židli a drží rybu v látkovém vaku hřbetem dolů ve svém klíně. Současně přidržuje močopohlavní papilu. Osuší břišní partii ryby, řitní ploutev a močopohlavní papilu suchou utěrkou a drží ocasní násadec obalený ve vlhké utěrce.
- Druhý pracovník si připraví suchou misku na zachycení jiker, označenou číslem a zaznamenanou hmotností prázdné misky.

Po osušení příslušných partií je ryba otočena na bok s břichem mírně ventrálně skloněným a ocasem směřujícím dolů. Miska se přiloží pod močopohlavní papilu tak, aby proud jiker stékal po její stěně. První pracovník zahájí jemnou masáž břišní dutiny v oblasti kaudální a postupně pokračuje směrem od hlavy až k papile. Pracovník s miskou sleduje, zda nedochází ke kontaminaci jiker (např. krví, výkaly, slizem nebo vodou) – v takovém případě je miska ihned odstraněna, ryba očištěna a výtěr obnoven. Při ukončení výtěru se doporučuje rybu otočit znovu hřbetem dolů, lehkým protřesením břišní dutiny usměrnit zbývající jikry k papile a následně je vytřít do misky. Vytřená samice je následně identifikována načtením mikročipu nebo kryogenní značky,

přičemž její údaje jsou porovnány s evidencí ryb připravených k reprodukci. Záznam o provedeném výtěru je doplněn do výtěrového listu. Ryba je následně opatrně vrácena do nádrže s čistou vodou o stejné teplotě jako při přípravě, kde je pod dohledem personálu ponechána k probuzení. Je nezbytné zajistit vysoké nasycení vody kyslíkem.

Odebrané jikry

Miska s odebranými jikrami se ihned označí lihovým fixem: uvede se plemeno (linie), individuální značka samice (alespoň 6 posledních čísel mikročipu) a skutečná hmotnost jiker. Miska zakrytá víkem nebo potravinářskou folií se umístí do stinného místa s teplotou prostředí 18–20 °C. Výtěrové listy (viz Příloha 1a) obsahují hmotnostní údaje včetně identifikace ryby. Obvyklý výtěr představuje přibližně 10–20 % hmotnosti samice, přičemž pro každou samici se zpravidla používá samostatná miska. Optimálně ovulované jikry mají jednotlou žlutohnědou až žlutozelenou barvu, která se může lišit v závislosti na plemeni, u kaprů KOI i podle barevného fenotypu jikernačky. Kvalitní jikry jsou bez příměsí krve, exkrementů, bílých přezrálých jiker, úlomků tkáně pocházejících z násilného výtěru či nadměrného množství ovariální tekutiny. Konzistence správně získaných jiker připomíná hustou kaši (rovnoměrná, bez vodnatých nebo sražených oblastí).

Vlastní postup provozní inseminace

Po vytření přibližně pěti samic (v závislosti na množství získaných jiker) jsou misky s jikrami umístěny na pracovní stůl. Z anestetické lázně se následně šetrně, ručně a bez použití nářadí, vyloví mlíčáci do mokrého, ale dobře vyždímaného látkového vaku. Po provedení individuální identifikace samce a jejím ověření dle připraveného plánu křížení se přistupuje k samotnému výtěru. Po osušení příslušných partií těla stejně jako u samic se sperma vytírá přímo do misky s jikrami. Při výtěru je nezbytné samce pevně a bezpečně fixovat, aby při případném prudkém pohybu nedošlo ke shození misek s jikrami. Na jednu samici se používá zpravidla 3–5 samců, tak, aby na 1 kg suchých jiker připadlo aspoň 10 ml spermatu. Identifikace použitého plemene (linie) a individuální kód každého samce jsou zaznamenány jak na misku, tak i do výtěrových listů (viz Příloha 1b). Po výtěru samců se spermie s jikrami důkladně, ale šetrně promísí „nasucho“, tedy bez přídavku vody, aby došlo k jejich rovnoměrnému pokrytí a připravenosti na následnou aktivaci.

4.4. Výtěr samců před výtěrem samic s krátkodobým uchováním spermatu po dobu maximálně dvou dnů

Postup při výtěru samců

Při odběru spermatu jsou nejprve samci uvedeni do anestezie. Jakmile jedinec dosáhne anestetického stavu odpovídajícího fázi 3a–3b dle Kolářové a kol. (2007), je manuálně (bez použití keseru) vyjmut z nádrže a přemístěn do vlhkého, avšak vyždímaného látkového vaku nebo kusu tkaniny. Před samotným odběrem spermatu je u každého jedince provedena identifikace plemenné příslušnosti a konkrétní linie. K odběru je použit suchý a čistý kontejner (obvykle nesterilní) o objemu 250 ml, který je po odběru označen individuálním identifikačním kódem a údajem o plemenné (liniové) příslušnosti samce. Teprve poté je přistoupeno k vlastnímu výtěru. Pracovník se posadí na židli a samce zafixuje v poloze břichem vzhůru tak, aby bylo zabráněno nežádoucím pohybům. Spolupracovník osuší oblast močopohlavního otvoru pomocí čistého savého papíru. První frakce spermatu je odstříknuta mimo nádobu, zatímco následná porce je po aplikaci jemné masáže břišní partie odsávána do suchého a čistého kontejneru pro buněčné kultury o objemu 250 ml (viz obr. 5). Odběr je prováděn za použití podtlaku v kontejneru, a to nejčastěji pomocí vývěvy, tlakové vody, malého kompresoru, případně v krajních případech i sáním ústy (viz obr. 6). Během odběru spolupracovník pečlivě dohlíží na kvalitu vzorku. Sperma nesmí obsahovat příměsi moči, výkalů či krve, neboť tyto kontaminanty výrazně snižují jeho uchovatelnost, životaschopnost i fertilizační schopnost. Kontejner je během odběru držen v úrovni těla ryby a plněn maximálně do jedné třetiny svého objemu. Odebrané sperma je následně uloženo ve vertikální poloze do přenosného termoboxu s vrstvou šupinkového ledu, při teplotě v rozmezí 0–4 °C (viz obr. 7). **Nejpozději do dvou hodin po odběru je sperma naředěno extendorem pro kapra obecného a množství získaného spermatu v mililitrech se zaznamenává do výtěrového protokolu (viz Příloha 1b).**



Obr. 5. Nesterilní kontejner o objemu 250 ml. Kontejner umožňuje šetrné a efektivní nasátí spermatu viz obr. 6 (Foto: O. Linhart).



Obr. 6. Výtěr samice (vlevo) a odběr spermatu do nesterilního kontejneru 250 ml pod tlakem vodní vývěvou (vpravo) u kapra obecného v provozních podmínkách líhně. Zachycen je standardní postup manuálního vytírání jiker a spermatu (Kašpar a kol., 2023).



Obr. 7. Uložení kontejnerů 250 ml se spermatem v termoboxu ve vertikální poloze po dobu maximálně do 2 dnů, zasypaných šupinkovým ledem. Tento způsob skladování zajišťuje stabilní teplotu v rozmezí 0–4 °C, prodlužuje životaschopnost spermií a využívá maximálně místo v termoboxu (Foto: O. Linhart).

Ředění a uchování spermatu *in vitro* v aerobním prostředí po dobu maximálně dvou dnů

Odebrané sperma je nejpozději do dvou hodin po odběru naředěno vhodným extenderem určeným pro kapra obecného. Pro prodloužení životaschopnosti spermií se používá kapří extendor, jehož složení na 1 litr destilované vody je následující:

0,3 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,12 g MgSO_4 , 2,98 g KCl, 5,84 g NaCl a 2,42 g Tris (hydroxymethyl)aminomethanu. pH roztoku je upraveno pomocí HCl na hodnotu 7,5 (Cejko a kol., 2019).

Výsledná osmotická hodnota extendoru činí přibližně 310 mOsmol.kg⁻¹. Tento extendor, speciálně vyvinutý pro kapra obecného, zajišťuje stabilní osmotické prostředí, účinnou pufrovací kapacitu a snižuje negativní účinky kontaminace močí. Součástí roztoku je Tris-HCl, který, pokud je čerstvě připraven, vykazuje mírný antiseptický účinek (Linhart a kol., 2020), což dále přispívá k prodloužení životaschopnosti spermií. **Roztok je nezbytné připravit vždy čerstvý a po nezbytnou dobu, maximálně však dobu 3 dnů, jej můžeme uchovávat v ledničce při 4 °C. Ředění se provádí zchlazeným extenderem (0–4 °C) v poměru 1 : 1, tedy jeden objemový díl spermatu ku jednomu dílu extendoru.** Postup spočívá v tom, že se vážením určí hmotnost odebraného spermatu, na jejímž základě se pipetou (např. 10 ml) přidá odpovídající hmotnostní objem extendoru (viz obr. 8). Minimální objem vzduchu, který musí zůstat v kontejneru po naředění spermatu, činí přibližně jednu třetinu celkového objemu nádoby. Po naředění jsou kontejnery uchovávány ve vertikální poloze v termoboxu vyplněném šupinkovým ledem (viz obr. 7) nebo v ledničce nastavené na teplotu 0–4 °C. Skladovací teplota je vždy udržována v rozmezí 0–4 °C. Sperma je za těchto podmínek skladováno po dobu maximálně dvou dnů. Termobox je umístěn v chladném prostoru líhně a led je pravidelně, minimálně jednou denně, doplňován tak, aby byla stabilní teplota udržena po celou dobu uchovávání vzorků.

Aklimatizace spermatu před osemeněním jiker

Pro dosažení plné motility a aktivity spermií při oplození je nezbytné extenderem ředěné sperma před smísením s jikrami vytemperovat na teplotu 15–20 °C. Tento krok je klíčový pro optimalizaci oplozenosti. Aklimatizace se provádí tak, že 250 ml kontejnery s příslušnými vzorky spermatu se vyjmou z chlazení a ponechají se volně temperovat při teplotě v prostředí líhně po dobu přibližně 2 hodin. Během následujících 2 hodin se pak se vzorky pracuje při osemenění a oplození. Vynechání temperace spermatu na cílovou

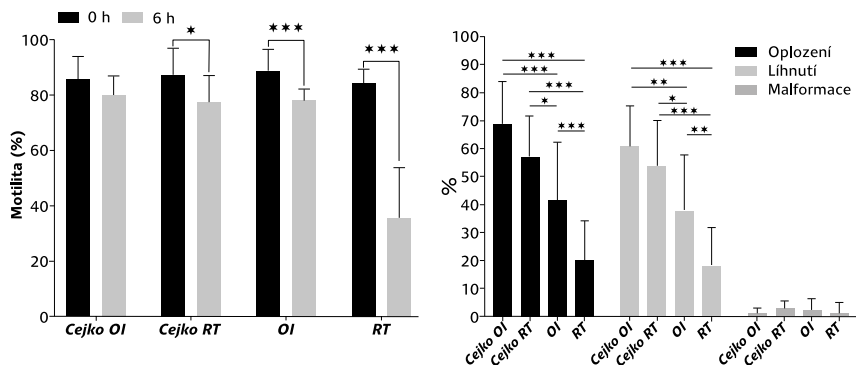
teplotu 15–20 °C může vést ke snížení oplozenosti až o 20–40 %. **Již jednou vytemperované sperma na 15–20 °C není možné znovu uchovávat na ledu, neboť návrat k nižší teplotě způsobuje pokles vitality a fertility spermií. Sperma kapra obecného je obecně senzitivní k teplotním výkyvům (Zhang a kol., 2024).**



Obr. 8. Ředění vychlazeného spermatu kapra obecného v 250 ml kontejneru vychlazeným extendorovým roztokem pro kapra (0–4 °C) v poměru 1 : 1 za použití předvážek pro přesné stanovení objemu a pipety o objemu 10 ml. Postup zajišťuje optimální poměr mezi spermatem a extendorovým médiem pro následné uchování při nízké teplotě (Foto: O. Linhart).

Je při uchovávání spermatu po dobu do 6 hodin postačující jeho skladování v neředěné formě extendorem a bez chlazení?

Na uvedenou otázku poskytl odpověď experiment prezentovaný na obrázku 9, ze kterého je zřetelně patrné, že motilita spermií byla statisticky významně snížena v případě, kdy nebyl použit extendor. Použití extendoru bez následného ochlazení spermatu rovněž vedlo ke snížení motility. Ochlazení spermatu po aplikaci extendoru však celkově neovlivnilo míru oplozenosti ani líhnivost (obr. 9). Rozdíl se projevil pouze při hodnocení výsledků jednotlivých samců. Chlazení ředěného spermatu vedlo k dosažení konzistentnějších výsledků mezi jednotlivými jedinci (k oplozování bylo použito 3 ml ředěného spermatu na 1 kg hmotnosti jiker).



Obr. 9. V levé části jsou uvedeny hodnoty motility spermií po 0 a 6 hodinách uchovávání, zatímco v pravé části jsou prezentovány výsledky oplozenosti, líhivosti a malformací po 6 hodinách uchovávání, hodnocené při použití následujících experimentálních variant:

Cejko OI – kapří extendor při chlazení (0–4 °C),

Cejko RT – kapří extendor bez chlazení (teplota líhně),

OI – bez extenderu, s chlazením (0–4 °C),

RT – bez extenderu, bez chlazení (teplota líhně).

Statistické rozdíly byly vyhodnoceny na hladinách významnosti * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

4.5. Výtěr samců před výtěrem samic s krátkodobým uchováním spermatu po dobu do jednoho měsíce

Tato metoda se využívá v případech, kdy je cílem prodloužené uchování spermatu po dobu delší než dva dny. V líhňových podmínkách obvykle probíhá výtěr v týdenních cyklech, a inovovaná technologie tak poskytuje možnost odebrat a uchovat větší množství spermatu pro použití v následujících výtěrových cyklech. Tímto způsobem lze efektivně využít nadbytečné množství spermatu, které se při výtěrech samců kapra běžně získává. Metoda zároveň umožňuje optimalizovat poměr pohlaví během plánovaných výtěrů, kdy není nutné do dalších týdenních výtěrových cyklů znovu zařazovat samce nebo samce stejného plemene či linie. Uvolněnou kapacitu líhně po samcích lze využít k výtěru většího počtu samic, což přispívá k efektivnějšímu využití kapacit líhně a synchronizaci produkce většího množství váčkového plůdku.

Úprava a uchování spermatu s použitím antibiotik

Technika výtěru samců je shodná s postupem popsáním v předchozí části. Po ředění spermatu v kontejneru o objemu 250 ml (v poměru 1 : 1 s extendorovým roztokem, do 2 h po výtěru samců) se z něj pipetou odebere 6–12 ml rozředěného spermatu, které se přenese do nového sterilního kontejneru o objemu 50 ml (viz obr. 10). **V případě plánovaného využití spermatu od jednoho samce v rámci čtyř po sobě následujících výtěrů (s maximální dobou uchovávání až jeden měsíc) je nutné připravit minimálně čtyři samostatné kontejnery.** Do 50ml kontejneru obsahujícího například 6 ml ředěného spermatu se poté napipetuje 36 μ l antibiotického roztoku Norostrepu obsahujícího kombinaci streptomycinu a penicilinu (200 mg penicilinu a 250 mg streptomycinu v 1 ml; viz obr. 11). Tato kombinace slouží k prevenci mikrobiální kontaminace, která by mohla nastat v případě narušení sterility během manipulace. Po přidání antibiotika je obsah kontejneru důkladně promíchán. Kontejnery se následně ukládají vertikálně do termoboxu, kde jsou proloženy šupinkovým ledem pro udržení teploty v rozmezí 0–4 °C. Je vhodné následně termoboxy s kontejnery přemístit do lednice a vrstvy ledu pravidelně v intervalu 3–4 dnů doplňovat (viz obr. 12). Tím je zajištěna dlouhodobější stabilita a biologická aktivita spermií až do doby jejich použití. Před vlastním osemeněním a oplozením jiker se opět provádí temperace (aklimatizace) spermatu na teplotu 15–20 °C, jak bylo popsáno výše. Jednou vytemperované sperma nesmí být opětovně vystaveno chladicím podmínkám.



Obr. 10. Sterilní kontejner o objemu 50ml určený pro krátkodobé uchovávání ředěného spermatu v aerobních podmínkách při teplotě 0–4 °C po dobu maximálně jednoho měsíce (Foto: O. Linhart).



Obr. 11. Roztok antibiotik Norostrep a.u.v. určený k pipetování do ředěného spermatu. Antibiotika je možné po otevření uchovávat při 4 °C maximálně po dobu jednoho měsíce. Léčivé látky v 1ml: Procaini benzylpenicillinum (ut monohydricum) 200mg, Dihydrostreptomycini sulfas 250mg.

Držitel rozhodnutí o registraci: Norbrook Laboratories (Ireland) Limited, Rossmore Industrial Estate, Monaghan, Irsko. Registrační číslo přípravku: 96/514/94-C (Foto: O. Linhart).



Obr. 12. Uchovávání naplněných 50ml kontejnerů s ředěným spermatem probíhá v termoboxech umístěných v ledničce, přičemž kontejnery jsou zasypány šupinkovým ledem. Pro zajištění optimálních podmínek je nezbytné doplnit led přibližně po 3–4 dnech (Foto: O. Linhart).

4.6. Kontrola pohyblivosti spermií, osemenění, aktivace a oplození jiker

Oplozování jiker lze provádět dvěma základními metodami. První metodou je přímé vytření samců do misky s jikrami, přičemž na 1 kg jiker se použije přibližně 5–10 ml kvalitního spermatu (s pohyblivostí 80–100 %) od každého z náhodně vybraných 3–5 samců (viz kapitola 4.3.). Tato metoda se využívá zejména při produkci tržních obsádek.

V případech, kdy je reprodukce realizována za účelem obnovy generačního hejna nebo založení experimentálních populací (například pro účely testování užitečnosti), se postupuje podle metodiky Kocoura a kol. (2012), která podrobně popisuje způsoby inseminace jiker. V těchto situacích se využívá krátkodobě uchovávané sperma, skladované v kontejnerech (viz kapitoly 4.4. a 4.5.). Před samotnou inseminací jiker je v případě použití krátkodobě uchovávaného spermatu nezbytné provést kontrolu jeho pohyblivosti podle metodiky Linhart a kol. (2011). Na základě výsledků této kontroly se určuje potřebný objem ředěného spermatu extenderem nutný pro oplození daného množství jiker:

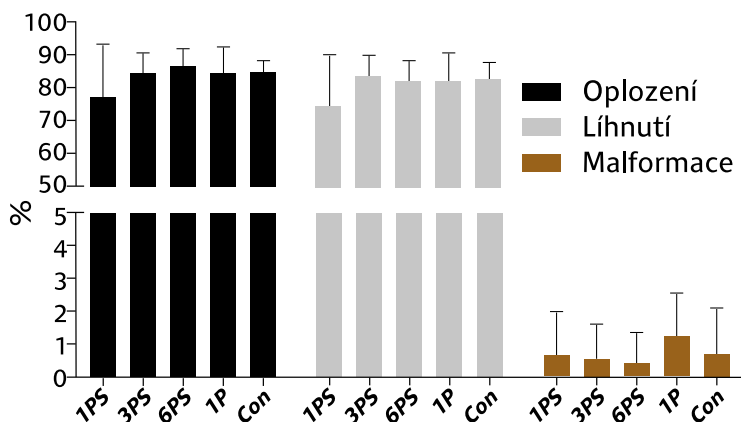
- Při pohyblivosti spermií 70–80 % je doporučeno použít minimálně 5 ml ředěného spermatu na 1 kg jiker.
- Při snížené pohyblivosti kolem 50 % se doporučený objem zvyšuje na minimálně 10 ml.kg⁻¹ jiker.
- Pokud pohyblivost klesne na 20–30 %, je pro zajištění alespoň 70% oplozenosti nezbytné aplikovat 15 ml ředěného spermatu na 1 kg jiker.

Při použití čerstvého spermatu postačuje 10 000–30 000 spermií na jednu jikru (Linhart a kol., 2015), což představuje zhruba 2 ml ředěného spermatu 1 : 1 extenderem. I při snížené pohyblivosti spermií na úrovni 20–30 % po měsíčním uchování spermatu je úspěšnost oplození zajištěna vysokým počtem spermií na jednu jikru. Při aplikaci 15 ml ředěného spermatu připadá na jednu jikru přibližně 200 000 spermií. Po aplikaci spermatu se jikry jemně a důkladně promíchají stěrkou po dobu přibližně 30 s. Osemeněné jikry lze aktivovat přidáním aktivčního roztoku pro kapra (Billard a kol., 1995) nebo vody z líhne používané k inkubaci jiker o teplotě, při níž bude inkubace jiker probíhat (optimálně 19–22 °C). Pro úspěšnou aktivaci gamet a oplození jiker se doporučuje přidat 0,5–1 objemový díl aktivčního média (aktivční roztok nebo voda z líhne) k objemu jiker v misce (1 l jiker váží přibližně 1,2 kg). Aktivace spermatu se projevuje zahájením pohybu bičíku a směrovaným pohybem spermií k mikropyle jikry v důsledku pozitivní chemotaxe. Oplození je definováno jako fúze samčího a samičího prvojádra. Bezprostředně po přidání vody je nutné směs znovu jemně, ale důkladně promíchat (po dobu 10–15 s) a následně ji ponechat v klidu po dobu 30–45 s. Přibližně jednu minutu po aktivaci gamet

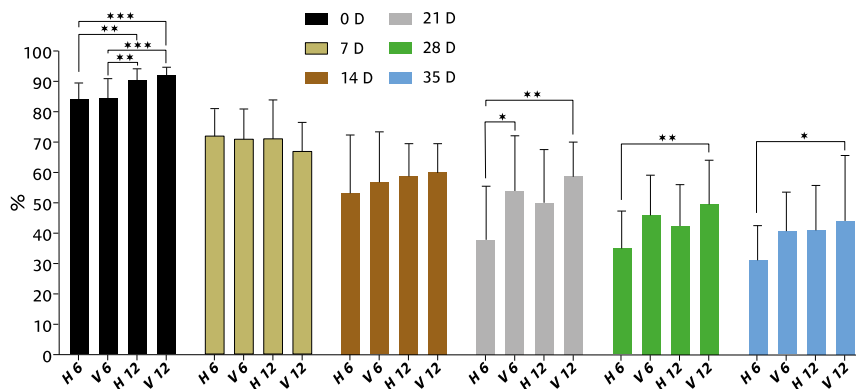
začíná proces odlepkování jiker. Jikry kapra obecného si zachovávají schopnost být oplodněny maximálně po dobu tří minut od aktivace vodou, po jejímž uplynutí dochází k uzavření mikropyle (Billard a kol., 1995).

Jaké byly výsledky experimentů zaměřených na motilitu a fertilitu uchovávaného spermatu s přidavkem antibiotik?

Experimentálně jsme vyhodnotili oplozenost, líhivost a výskyt malformací larev po 9denním uchovávání spermatu v malých sterilních kontejnerech s přidavkem antibiotik i bez nich. Mezi experimentálními skupinami nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly (k oplozování bylo použito 3 ml ředěného spermatu na 1 kg hmotnosti jiker; viz obr. 13). Dále byla posouzena možnost skladování kontejnerů ve vertikální poloze (nižší kontaktní plocha s atmosférou) a v horizontální poloze (vyšší kontaktní plocha), přičemž byly testovány dva objemy ředěného spermatu (6 a 12 ml). Motilitu spermií se podařilo zachovat až po dobu 35 dnů při použití 6 μ l antibiotika Norostrep na 1 ml ředěného spermatu (Norostrep – 200 mg penicilinu a 250 mg streptomycinu v ml zásobní suspenze), a to bez výrazných rozdílů mezi horizontální a vertikální orientací kontejnerů a objemy ředěného spermatu (viz obr. 14).



Obr. 13. Oplozenost, líhivost a malformace embryí po 9denním uchování spermatu ve sterilních 50ml kontejnerech, objem 6ml ředěného spermatu extenderem 1 : 1 při teplotě 0–4 °C. Varianty antibiotické suplementace: **1PS** – 1 μ l Norostrepu.ml⁻¹ spermatu, **3PS** – 3 μ l Norostrepu.ml⁻¹ spermatu, **6PS** – 6 μ l Norostrepu.ml⁻¹ spermatu, **1P** – 1 μ l penicilinu.ml⁻¹ spermatu, **Con** – kontrola bez antibiotika.



Obr. 14. Procentuální motilita ředěného spermatu (6 nebo 12 ml) s 6 µl *Norostrepu.ml⁻¹* uchovávaného v 50 ml sterilních kontejnerech umístěných v termoboxu při teplotě 0–4 °C po dobu 0, 7, 14, 21, 28 a 35 dnů (D – dny). Hodnoceny byly čtyři varianty podle objemu a orientace uložení kontejnerů v termoboxu:

H6 – horizontální uložení, 6 ml ředěného spermatu,

V6 – vertikální uložení, 6 ml ředěného spermatu,

H12 – horizontální uložení, 12 ml ředěného spermatu,

V12 – vertikální uložení, 12 ml ředěného spermatu.

4.7. Odlepkování jiker

Po aktivaci a oplození jiker následuje před jejich vlastní inkubací fáze odlepkování. U kapra se v posledním období osvědčilo ošetření jiker roztokem kyseliny taninové (tanin; např. Sigma-Aldrich, objednáací číslo 1401-55-4) podle metodiky Kašpar a kol. (2023) a Sotnikov a kol. (2025). Postup odlepkování začíná bezprostředně po oplození jiker, kdy se jikry míchají ve vodě z líhně za účelem jejich rovnoměrného bobtnání a současného zamezení předčasného slepení. Tomu lze předejít udržením poměru objemu vody k objemu jiker v rozmezí 0,5–1 : 1. Přibližně 90 s po aktivaci gamet (vodou nebo aktivačním roztokem) je doporučeno aktivační médium obsahující zbylé spermie opatrně odstranit, zejména pokud nebyl dodržen výše uvedený poměr média k objemu jiker. Odstranění se provádí jemným sléváním média přes okraj misky po krátkém usazení jiker (cca 5 s) v klidném stavu bez míchání. Následně se k jikrám přidá čerstvá voda z líhně tak, aby hladina vody právě dosahovala k hornímu okraji usazených jiker, čímž je zajištěn doporučený poměr objemů. Jak jikry postupně bobtnají, doplňuje se voda za stálého míchání, které provádíme manuálně nebo pomocí míchacího pultu (viz obr. 15A). Tento postup trvá přibližně 10–15 minut

od aktivace gamet. Poté se přidá roztok taninu v koncentraci 2 g.l^{-1} vody z líhně v objemu odpovídajícím celkovému objemu nabobtnaných jiker a směs se míchá po dobu přibližně 1 minuty. Následně se taninový roztok slije a nahradí druhou dávkou roztoku taninu v objemu přibližně 1,5násobném vzhledem k objemu jiker, přičemž hladina roztoku přesahuje horní okraj usazených jiker o 1–2 cm. Míchání pokračuje po dobu 3–5 minut. Po ukončení působení taninu se jikry důkladně propláchnou 2–3krát vodou z líhně a následně se nasadí k inkubaci do inkubačních lahví (viz obr. 15B). Pokud jikry během promývání nadále vykazují lepivost, je možné prodloužit expozici taninu až na 8 minut bez negativního vlivu na míru oplozenosti či líhivosti (Kašpar a kol., 2023).



Obr. 15. A) Odlepkování oplozených jiker taninem při použití míchacího pultu. B) Oplozené a odlepkované jikry v Zugské inkubační lahvi (Sotnikov a kol., 2025).

4.8. Inkubace jiker, líhnutí a rozplavání váčkového plůdku

Po umístění jiker do inkubační Zugské láhve (Gela a kol., 2009) je nezbytné neprodleně zaznamenat číslo láhve do výtěrového listu (Příloha 1c) přiřazeného konkrétnímu plemeni či křížení, aby byla zamezena záměna různých ošupení, plemen a křížení během líhnutí a vysazování embryí. Inkubace jiker se provádí dle standardních postupů, přičemž doporučujeme použít Zugské inkubační láhve o objemu 7–10 l, které lze plnit až do dvou třetin jejich kapacity (500–600 g suchých jiker na láhev). Inkubace probíhá při teplotě $19\text{--}22^\circ\text{C}$ až do vylíhnutí váčkového plůdku, k němuž dochází 3–4 dny po oplození jiker. Průtok vody inkubačními lahvemi je regulován tak, aby docházelo k pozvolnému „vlnění a přelévání“ jiker. Tento průtok odpovídá přibližně 3 l vody za minutu na jednu

láhev. Během inkubace se denně odstraňují uhynulé jikry odsáváním hadičkou. Neoplozené a mrtvé jikry začínají po dni a půl inkubace bělat a během následujících dvou dnů se hromadí v horní části objemu jiker, kde jsou snáze odsátelné.

K prevenci a tlumení výskytu plísňových onemocnění jiker se využívají prostředky běžně používané v líhňařské praxi, jako jsou UV lampy a ozonizace (Gela a kol., 2009). Pro desinfekci veškerého vybavení rybí líhne před nasazením jiker a plůdku, stejně jako po každém vyskladnění plůdku, se používají chemické přípravky na bázi chlóru/ chlornanu sodného (například SAVO original, Unilever ČR, spol. s r.o., Praha) v souladu s pokyny výrobce. Po desinfekci je nezbytné zařízení důkladně opláchnout čistou vodou.

Po vylíhnutí se váčkový plůdek udržuje do fáze rozplavání v kolíbkách či inkubačních aparátech různých typů, přičemž volba zařízení závisí na množství plůdku a zavedených postupech. Plůdek se líhne při dosažení 60–70denních stupňů (d°), v závislosti na teplotě vody a průtoku. Celý proces probíhá převážně najednou a v celé láhvi během jedné hodiny. Dokonale vyčištěné jikry jsou krátce před začátkem líhnutí přesazeny do inkubátorů, kde dochází k jejich vylíhnutí. Po vylíhnutí plůdek klesá ke dnu inkubátoru, přičemž rozpadlé jikerové obaly se zachycují na uhelonovém sítu, které je nutné pravidelně čistit, aby nedošlo k jeho uvolnění z rámu nebo ucpání. Pro odchov kapra od fáze líhnutí po rozplavání a expedici do rybníků se používají speciální inkubátory (silo) s objemem vody 225 litrů (viz obr. 16). Přívod vody do inkubátoru je umístěn uprostřed kónického dna, přičemž proud vody je usměrňován vyfrézovanými drážkami kužele vloženého do prostoru inkubátoru. Tyto drážky vytvářejí točivý proud vody, který zajišťuje, že málo pohyblivý plůdek nemůže klesnout ke dnu ve větší vrstvě, ale je neustále nadnášen a zásobován čerstvou kyslíkatou vodou. Část plůdku se rovněž zachycuje na vnitřních stěnách aparátu. V době nadechnutí a rozplavání se plůdek zdržuje u hladiny a v horní třetině síla. Proto je horní část síla opatřena uhelonovým límcem, který zabraňuje úniku plůdku. Průtok sílem se nastavuje podle množství nasazeného plůdku na přibližně 20 l za minutu. Kapacita jednoho síla je 2–3 miliony kusů K_0 (Gela a kol., 2009).



Obr. 16. Speciální inkubátory (silo) s objemem vody 225 litrů pro váčkový plůdek kapra (Foto: O. Linhart).

4.9. Expedice váčkového plůdku

Vysazování a manipulace s kapřím plůdkem po rozplavání (Gela a kol., 2009)

V průběhu larvální periody po úplném rozplavání (přibližně 80–90 d°) po vylíhnutí, v závislosti na teplotě vody je plůdek vysazován do plůdkových rybníků (výtažníků). Tyto rybníky jsou obvykle mělké a doporučuje se je napustit vodou 2–7 dní před plánovaným vysazením (rozvoj vhodné přirozené potravy). Zdravý a plně rozplavaný plůdek se při odběru (např. do kádinky) aktivně pohybuje ve vodním sloupci, neklesá ke dnu a má dobře vyvinutý plynový měchýř.

Odběr a stanovení množství plůdku (Gela a kol., 2009)

Expedice plůdku probíhá tak, že rozplavaný plůdek je jemnou uheltonovou sítkou opatrně přeloven do lavoru s vodou o známém objemu. Po nalovení požadovaného množství plůdku se plůdek rovnoměrně rozptýlí v celém objemu lavoru a odebere se vzorek pomocí měrky (doporučeno 20 ml). Tento vzorek se přenesse do menší nádoby s vodou a plůdek se přeléváním přes hranu do jiné misky postupně spočítá. Celý postup se opakuje 3–5× a na základě zjištěných hodnot se vypočítá průměrný počet kusů na daný objem vody. Výsledný počet kusů ve vzorku se přepočítá na 1l (např. při použití 20ml měrky se násobí 50; u 10ml měrky 100, u 50ml měrky 20 atd.) a následně vynásobí celkovým objemem vody v lavoru. Takto se určí celkové množství plůdku v nádobě (Gela a kol., 2009).

Balení, značení a přeprava (Gela a kol., 2009)

Po stanovení množství se potřebný objem vody s plůdkem (např. 10l vody obsahuje 10 000 ks, takže pro 100 000 ks je třeba odebrat 10l) přenesse do připravených dvojitých PVC vaků o objemu 30–50l (podle plánovaného počtu kusů), ideálně se zakulacenými rohy. Vak se předem naplní několika litry vody z líhne o stejné teplotě, v jaké byl plůdek dosud chován. Před každým odběrem je nutné plůdek v lavoru jemně promíchat, aby se zajistilo rovnoměrné rozložení. Do jednoho vaku se balí obvykle 50–200 tisíc kusů plůdku (K_0), v závislosti na velikosti vaku a době přepravy. Při krátké přepravě (do 30 minut) lze do 50l vaku zabalit až 300 tisíc kusů. Vak se doplní vodou do celkového objemu 10–20l, zbylý prostor se napustí technickým kyslíkem a oba vaky se samostatně uzavřou (pomocí dvojité gumičky, lepicí pásky či speciální svorky). Každý naplněný vak se nesmazatelně označí údajem o množství ryb, plemeni nebo kříženci. Vaky se až do přepravy skladují naležato ve stínu, ideálně na měkké podložce na podlaze líhne. Během přepravy je nutné chránit vaky před přímým slunečním zářením a přehřátím. V chladném počasí je naopak potřeba zabránit poklesu teploty vody pod 15 °C. Kapří plůdek je v přechodném období mezi endogenní a exogenní výživou obzvláště citlivý na teplotní výkyvy. Za kritickou se považuje teplota 10–12 °C, kdy dochází ke snížení pohybové aktivity. V případě náhlého ochlazení, kdy teplota vody klesne pod 12 °C, je vhodné (pokud to technické možnosti dovolují) odložit vysazení o 3–5 dní a plůdek ponechat v líhni při teplotě 16–18 °C. Při této teplotě plůdek i po rozplavání přežívá bez větších ztrát ze zásob žloutkového váčku (Gela a kol., 2009).

4.10. Možné epigenetické změny v závislosti na době stárnutí spermií

Použili jsme komplexní multiomické přístupy k odhalení epigenetických změn ve spermatu vyvolaných jeho stárnutím a k posouzení jejich dopadu na embryonální vývoj a zdravotní stav potomstva. Spermie kapra obecného byly uchovávány *in vitro* v kapřím extendoru po dobu 14 dnů a následně byly zkoumány účinky uchovávání na funkční vlastnosti spermií a vývoj potomstva (Cheng a kol., 2025). K objasnění možných mechanismů, jimiž uchovávání spermií ovlivňuje vývoj potomstva, jsme integrovali data z analýz DNA metylomu, transkriptomu a proteomu. Prodloužené *in vitro* uchovávání, tedy stárnutí spermií, vedlo k poklesu motility spermií a jejich oplození schopnosti, což bylo doprovázeno určitými změnami v metylačním vzoru DNA. Integrované analýzy DNA metylomu potomstva, komparativní transkriptomiky a měření srdeční výkonnosti odhalily možné změny v expresi genů souvisejících s vývojem nervové soustavy, morfogenezí myokardu a buněčnými odpověďmi na podněty. Proteomické analýzy dále ukázaly obohacení drah spojených nejen s vizuální percepcí a funkcí nervového systému, ale i s imunitní odpovědí. Získané výsledky poskytují přesvědčivé důkazy o epigenetické dědičnosti charakteristik potomstva kapra v případě použití krátkodobě uchovávaného spermatu pro oplození (Cheng a kol., 2025). Na základě získaných výsledků doporučujeme upřednostnit využití spermatu uchovávaného *in vitro* po dobu delší než 14 dnů, zejména pro potřeby běžné tržní produkce kapra obecného.

5. Ekonomický přínos

Navržená technologie nachází praktické uplatnění ve specializovaných líhních kapra obecného, a to především v zařízeních s plemennými chovy. Její implementace přináší několik významných ekonomických a genetických benefitů:

a) Zachování genetické variability

Jedním z klíčových přínosů metodiky je uchování genetické diverzity plemen kapra, která je v důsledku intenzivního chovu dlouhodobě ohrožena. Zvýšením míry oplozenosti a líhnivosti dochází k omezení negativních dopadů inbreedingu, čímž se snižuje riziko genetické degenerace a potenciálního zániku jednotlivých plemen. Je významné také z hlediska šlechtění, neboť zvýšením míry oplozenosti a líhnivosti přispívá k vyšší genetické variabilitě jak uvnitř, tak mezi rodinami. To následně umožňuje efektivnější selekční šlechtění s cílem produkce „geneticky zlepšených“ rodin.

Na základě aktuálního ceníku Ministerstva zemědělství ČR (web MZe, <https://mze.gov.cz/public/portal/mze/lesy/rybarstvi-a-rybnikarstvi/ceniky/ceniky/>) lze stanovit hodnotu jednoho generačního hejna (minimálně 120 ks ryb, průměrná hmotnost jedince 7 kg) na přibližně 680 000 Kč.

V případě běžné produkce 100 tun kapra by dlouhodobé snížení užítkovosti vlivem inbreedingu o 10 % vedlo k produkci pouze 90 tun, tedy o 10 tun méně. Tato ztráta by představovala přibližně 6 milionů Kč na hrubém zisku, při předpokládané velkoobchodní ceně 60 Kč.kg⁻¹ (100 000 kg × 60 Kč.kg⁻¹).

b) Zvýšení líhnivosti

V případech, kdy je nezbytné uchovávat sperma po dobu 24 hodin, může aplikace krátkodobého uchování v extendoru při teplotě 0–4 °C, následovaná temperací na teplotu výtěru, vést ke zvýšení líhnivosti o 20–40 %. Tento postup se tak projevuje ve zvýšení celkové výkonnosti líhně minimálně o 20 %. V případě středně velké líhně s roční produkcí 20 milionů kusů plůdku tento nárůst představuje zvýšení výstupu o přibližně 4 miliony kusů váčkového plůdku. Při odhadované tržní hodnotě lze tento nárůst kvantifikovat jako finanční přínos ve výši přibližně 160 000 Kč ročně.

Dalším důvodem využití krátkodobě uchovaného spermatu je možnost optimalizace a reorganizace práce v líhni, která umožňuje i menšímu počtu pracovníků zvýšit produkci váčkového plůdku. Na počátku jsou samci připraveni k výtěru. Odebere se větší objem spermatu, které je následně uchováváno po stanovenou dobu výtěrů. Příprava jikernaček v líhni pak může být rozdělena do menších partií během několika následujících dnů, přičemž se zabrání přežrání jikernaček či jejich výtěru do žlabů, a celý proces výtěru tak může být efektivně zvládnut.

c) Snížení provozních nákladů

Zavedením technologie do praxe dochází ke snížení nákladů spojených s výtěrem – především díky redukci počtu využívaných samců o 50 % a snížení celkového stavu generačních ryb o přibližně 25 %. U zařízení, která udržují chovy až 20 plemen, lze tímto způsobem snížit provozní náklady (odhadované na 3 miliony Kč ročně) až o 20 %, tj. o přibližně 600 000 Kč ročně. V situaci, kdy líheň nemá k dispozici otcovskou linii ryb, lze využít genetický materiál ve formě krátkodobě uchovaného spermatu z jiné líhně – ať už v rámci téže společnosti, nebo od externího podnikatelského subjektu. Tímto způsobem lze snížit náklady spojené s přípravou otcovské linie k výtěru.

Další snížení je možné spatřit v nutnosti přípravy samců hormonální přípravou a ohřevem. Každý výtěr 100 ks samců představuje náklad na hormonální přípravu přibližně 8 500 Kč (při ceně hypofýzy 8 000 Kč.g⁻¹ hypofýzy) a ohřev vody elektrickým proudem činí přibližně 6 000 Kč. Jediným nákladem krátkodobého uchování spermatu jsou sterilní 50 ml kontejnery kdy 100 ks lze pořídit za 3 000 Kč. Velké 250ml kontejnery je možné úspěšně recyklovat.

6. Uplatnění technologie v praxi

Technologie je aplikovatelná v běžné chovatelské praxi při reprodukci kapra obecného v podmínkách České republiky, zejména díky využití krátkodobého uchovávání větších objemů spermatu. Její využití přispívá k optimalizaci procesu přípravy generačních ryb před výtěrem, a to se zaměřením na zvýšení počtu připravovaných samic. Zároveň umožňuje navýšení kapacity líhňových zařízení a snížení celkových provozních nákladů anebo transport spermatu za účelem realizace provozních křížení nebo realizaci testů užitkovosti. Tato technologie byla vyvinuta ve spolupráci se společností Rybářství Nové Hradky s.r.o., které se dlouhodobě zaměřuje mimo jiné na možnosti využití krátkodobě uchovávaného spermatu v chovu plemenných ryb. Podnik disponuje moderním líhňovým zařízením, které umožňuje efektivní využití uchovaného spermatu pro vlastní potřeby. Vzhledem k tomu se podnik aktivně zajímá o technologické postupy uchování spermatu ve větších objemech s cílem podpořit produkci geneticky kvalitních a rezistentních linií kapra, což vede k rychlejšímu ekonomickému zhodnocení investovaných prostředků.

7. Seznam literatury

- Alavi, S.M.H., Psenicka, M., Rodina, M., Policar, T., Linhart, O., 2008. Changes of sperm morphology, volume, density and motility and seminal plasma composition in *Barbus barbus* (Teleostei: Cyprinidae) during the reproductive season. *Aquatic Living Resources* 21: 75–80.
- Billard, R., Gatty, J.L., Hollebecq, M.G., Marcel, J., Saad, A., 1986. Biology of gametes, eggs and embryos. In: Billard, R., Marcel, J. (Eds), *Aquaculture of Cyprinids*, INRA, Paris, pp. 151–164.
- Billard, R., Cosson, J., Perche, G., Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 129: 95–112.
- Bobe, J., Labbe, C., 2009. Chilled Storage of Sperm and Eggs. In: Cabrita E., Robles V., Herrage P. (Eds), *Methods in Reproductive Aquaculture* (1st Ed). CRC press; 18. doi:10.1201/9780849380549.

- Cejko, B.I., Žarski, D., Palińska-Žarska, K., Słowińska, M., Kowalski, R.K., 2019. Artificial seminal plasma improves motility and fertilisation capacity of common carp *Cyprinus carpio* L. sperm during one hour of storage. *Aquaculture* 506: 224–228.
- Contreras, P., Dumorné, K., Ulloa-Rodríguez, P., Merino, O., Figueroa, E., Farías, J.G., Valdebenito, I., Risopatrón, J., 2020. Effects of short-term storage on sperm function in fish semen: a review. *Reviews in Aquaculture* 12: 1373–1389.
- FAO, 2022. Fishery and Aquaculture Statistics. Global aquaculture production 1950–2020 (FishStatJ). In: FAO Fisheries and Aquaculture Division [online]. Rome. Updated 2022. www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en
- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízení reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 99, 43 s.
- Hulata, G., 1995. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection. *Aquaculture* 129: 143–155.
- Cheng, Y., Vechtova, P., Fussy, Z., Sterba, J., Linhartová, Z., Rodina, M., Tučková V., Gela D., Samarin, A.M., Lebeda, I., Xin, M.M., Zhang, S., Rahi, D., Linhart, O., 2021. Changes in phenotypes and DNA methylation of *in vitro* aging sperm in common carp *Cyprinus carpio*. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 5925.
- Cheng, Y., Zhang, S., Linhartová, Z., Linhart, O., 2022a. Common carp (*Cyprinus carpio*) sperm reduction during short-term *in vitro* storage at 4 °C. *Animal Reproduction Science* 243: 107017.
- Cheng, Y., Zhang, S., Linhartová, Z., Shazada, N.E., Linhart, O., 2022b. Practical use of extender and activation solutions for short-term storage of common carp (*Cyprinus carpio*) milt in a hatchery. *Aquaculture Reports* 24: 101160.
- Cheng, Y., Waghmare, S.G., Zhang, S., Vechtova, P., Schumacher, F., Samarin, A.M., Samarin, A.M., Linhartová, Z., Dey, A., Dietrich, M., Sterba, J., Alavi, S.M.H., Labbé, C., Linhart, O., 2023. Aging of common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm induced by short term storage does not alter epigenetic modifications in offsprings. *Aquaculture* 571: 739484.
- Cheng, Y., Zhang, S., Nayak, R., Vechtova, P., Schumacher, F., Linhartová, P., Gazo, J., Linhartová, Z., Waghmare, S.G., Kleuser, B., Dey, A., Rodinová, V., Rodina M., Sterba, J., Alavi, S.M.H., Labbé, C., Linhart, O., 2024. Fertilization by short-term stored sperm alters DNA methylation patterns at single-base resolution in common carp (*Cyprinus carpio*) embryos. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 34: 1167–1187.
- Cheng, Y., Alavi, S.M.H., Zhang, S., Nayak, R., Waghmare, S.G., Rahi, D., Ma, Z., Shazada, N.E., Linhart, O., Linhartová, Z., 2025. Comprehensive multi-omics analysis uncovers potential risks of aged sperm on offspring development after short-term storage. *BMC Biology* 23: 264.

- Khan, H.A., Gupta, S.D., Reddy, P.V.G., Sahoo, S.K., 1986. Use of milk, urea, sodium sulphite and human urine for degumming fertilized eggs of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Hungarica* (Szarvas) 5: 47–54.
- Kaspar, V., Kohlmann, K., Vandeputte, M., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Alavi, S.M.H., Hulak, M., Linhart, O., 2007. Equalization of sperm concentrations in a common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm pool does not affect variance in proportions of larva sired in competition. *Aquaculture* 272: S204–209.
- Kašpar, V., Hubálek, M., Franěk, R., Novotný, V., Gela, D., 2023. Umělá reprodukce kapra s využitím alternativních způsobů odlepkování jiker. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 201, 37 s.
- Kocour, M., Mauger, S., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., Vandeputte, M., 2007. Heritability estimates for processing and quality traits in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using a molecular pedigree. *Aquaculture* 270: 43–50.
- Kocour, M., Gela, D., Šlechtová, V., Kopecká, J., Šlechta, V., Rodina, M., Flajšhans, M., 2008. Carp Breeds of the Czech Republic. In: Bogeruk, A.K. (Ed.), *Catalogue of Carp Breeds (Cyprinus carpio L.) of the Countries of the Central and Eastern Europe*, Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Moscow, pp. 13–46 (in English and Russian).
- Kocour M., Kašpar V., Gela D., Flajšhans M., 2012. Způsoby osemeňování jiker při umělé reprodukci ryb z hlediska následného využití potomstva. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 133, 38 s.
- 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 pro ryby*. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 77, s. 3–19.
- Kowalski, R.K., Cejko, B.I., 2019. Sperm quality in fish: determinants and affecting factors. *Theriogenology* 135: 94–108.
- Linhart, O., Kudo, S., Billard, R., Šlechta, V., Mikodina, Y.V., 1995. Morphology composition and fertilization of carp eggs. *Aquaculture* 129: 75–93.
- Linhart, O., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Vandeputte, M., 2005. Spermatozoal competition in common carp (*Cyprinus carpio*): what is the primary determinant of competition success? *Reproduction* 130: 705–711.
- Linhart, O., Rodina, M., Boryshpolets, S., 2011. Hodnocení čerstvého spermatu ryb. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 114, 19 s.
- Linhart, O., Rodina, M., Kašpar, V., 2015. Common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) male fertilization potency with secure number of spermatozoa per ova. *Journal of Applied Ichthyology* 31: 169–173.
- Linhart, O., Cheng, Y., Rodina, M., Tučková, V., Shelton, W.L., Tinkir, M., Memiş, D., Xin, M.M., 2020. Sperm management of European catfish (*Silurus glanis* L.) for effective reproduction and genetic conservation. *Aquaculture* 529: 735620.

- Prchal, M., Gela, D., Flajšhans, M., Piačková, V., Kocour Kroupová, H., Kocour, M., 2021. Využití amurského lysce pro zefektivnění produkce kapra v rybniční akvakultuře ČR. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 189, 51 s.
- Redondo-Muller, Ch., Cosson, M.P., Cosson, J., Billard, R., 1991. *In vitro* maturation of the potential for movement of carp spermatozoa. Molecular Reproduction and Development 29: 259–270.
- Raftowicz, M., 2022. Prospects for the development of the demand for carp in poland among young consumers. International Journal of Environmental Research and Public Health 19: 3831.
- Rybářské sdružení ČR (online), 2025. Produkce ryb a trh v roce 2024 (cit. 2020–07–25). www.cz-ryby.cz
- Saad, A., Billard R., 1987. Composition et emploi d'un dilueur d'insemination chery la carpe, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 65: 67–77.
- Saad, A., Billard, R., Theron, M.C., Hollebecq, M.G., 1988. Short term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. Aquaculture 71: 133–150.
- Shazada, N.E., Alavi, S.M.H., Siddique, M.A.M., Cheng, Y., Zhang, S., Rodina, M., Kocour, M., Linhart, O., 2023 Sperm short-term storage in common carp from laboratory research to aquaculture – A review. Reviews in Aquaculture 12827.
- Shazada, N.E., Siddique, M.A.M., Zhang, S., Zhijun Ma, Rodina, M., Cheng, Y., Linhartová, Z., Linhart, O., 2025. Application of a practical method for short-term stored common carp sperm with extenders and quality adjustment before fertilization for breeding success, Animal Reproduction Science 274: 107763.
- Soin, S.G., 1976. Two new methods for elimination of egg stickiness. Rybnoe Chozajstvo 10: 18–21. (in Russian)
- Sotnikov, A., Dzyuba, B., Rodina, M., Kašpar, V., Prchal, M., Kocour, M., Linhart, O., 2025. Využití zmrazování spermatu ve šlechtění a ochraně genofundu kapra obecného. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 210, 33 s.
- Topic Popovic, N., Strunjak-Perovic, I., Coz-Rakovac, R., Barisic, J., Jadan, M., Persin Berakovic, A., Sauerborn Klobucar, R., 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. Journal of Applied Ichthyology 28: 553–564.
- Woynarovich, E., 1962. Hatching of carp eggs in zuger-glasses and breeding of carp larva until and age of 10 days. Bamidgeh 14: 38–46.
- Woynarovich, E., Woynarovich, A., 1980. Modified technology for elimination of stickiness of common carp *Cyprinus carpio* eggs. Aquaculture Hungarica 2: 19–21.
- Yaron, Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. Aquaculture 129: 49–73.
- Zhang, S., Cheng, Y., Linhartová, Z., Wu, Q., Shazada, N.E., Linhart, O., 2022. *In vivo* and *in vitro* aging of common carp *Cyprinus carpio* sperm after multiple hormonal application and stripping of males. Fish Physiology and Biochemistry 48: 1235–1250.

- Zhang, S., Cheng, Y., Věchtová, P., Boryshpolets, S., Alavi, S.M.H., Shazada, N.E., Cosson, J., Linhart, O., 2023a. Potential implications of sperm DNA methylation functional properties in aquaculture management. *Reviews in Aquaculture* 15: 536–556.
- Zhang, S., Cheng, Y., Alavi, S.M.H., Shazada, N.E., Linhartová, Z., Rodinová, V., Linhart, O., 2023b. Elevated temperature promotes spermatozoa motility kinetics and fertilizing ability following short-term storage: an implication for artificial reproduction of common carp *Cyprinus carpio* in a hatchery. *Aquaculture* 565: 739126
- Zhang, S., Bondarenko, O., Shazada, N.E., Cheng, Y., Rahi, D., Rodina, M., Gazi, I., Linhartová, Z., Siddique, M.A.M., Alavi, S.M.H., Boryshpolets, S., Dzyuba, B., Linhart, O., 2024. Plasma membrane contributes to temperature-induced spermatozoa motility kinetics in short-term stored sperm of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 583: 740588.

8. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 99, 43 s.
- Kašpar, V., Hubálek, M., Franěk, R., Novotný, V., Gela, D., 2023. Umělá reprodukce kapra s využitím alternativních způsobů odlepkování jiker. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 201, 37 s.
- Kocour M., Kašpar V., Gela D., Flajšhans M., 2012. Způsoby osemeňování jiker při umělé reprodukci ryb z hlediska následného využití potomstva. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 133, 38 s.
- Sotnikov, A., Dzyuba, B., Rodina, M., Kašpar, V., Prchal, M., Kocour, M., Linhart, O., 2025. Využití zmrazování spermatu ve šlechtění a ochraně genofondu kapra obecného. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 210, 33 s.

Dedikace

Technologie je výsledkem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum č. QK21010141 – 100 %.

9. Přílohy

1. Vzory výtěrových listů (převzato Gela a kol., 2009): 1a) pro mlíčáky 1b) pro jikernačky 1c) oplození

Záznam o výtěru

Druh ryby

List č.

Datum zahájení přípravy

Datum injikace

Datum výtěru

Mlíčáci

	Evidenční číslo		Hmotnost (g)	Objem spermatu (ml)	Vzorek na koncentraci	
	Chovná skupina	PIT/značka				
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40						

Záznam o výtěru

Druh ryby

List č.

Datum zahájení přípravy

Datum injikace

Datum výtěru

Jikernačky

	Evidenční číslo		Hmotnost (g)	Miska číslo	Hmotnost prázdné misky (g)	Hmotnost misky s jikrami (g)	Hmotnost jiker (g)	Vzorek
	Chovná skupina	PIT/značka						
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

Druh ryby

List č.

Datum zahájení přípravy

Záznam o výtěru

Datum injikace

Oplození

Datum výtěru

Miska		Jíkernačky			Mlčáci		Láhev č.	Odhad oplozenosti	Vykuleno		Vysazeno	Spočteno
Číslo	Barva	evidenční číslo	Hmotnost jiker		evidenční číslo	Objem spermatu (ml)			Datum	Hodina	Kolíbka číslo	
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												

Externí odborný oponent

*Ing. Miroslav Blecha, Ph.D.
Dvůr Lnáře, spol. s r.o.
Lnáře 18, 387 42 Lnáře*

Odborný interní oponent

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

Ověření a uplatnění technologie 2025,

Rybářství Nové Hradky s.r.o., Štiptůň 78, 374 01 Nové Hradky

Adresa autorského kolektivu

*Ing. David Gela, Ph.D. (25 %)
Ing. Vojtěch Kašpar, Ph.D. (25 %)
Ing. Marek Rodina, Ph.D. (25 %)
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc. (25 %)*

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav
rybářský a hydrobiologický, Zátíší 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, Vodňany, www.frov.jcu.cz; přidělený editor: dr. hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D.; redakce: Zuzana Dvořáková; náklad: 200 ks, 1. vydání; technologie ověřena roce 2025; vytištěna v roce 2025; publikace není vydána tiskem, dostupná elektronicky; grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství Jena Šumperk.



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



ISBN 978-80-7514-232-0