FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Způsoby osemeňování jiker při umělé reprodukci ryb z hlediska následného využití potomstva

M. Kocour, V. Kašpar, D. Gela, M. Flajšhans

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Způsoby osemeňování jiker při umělé reprodukci ryb z hlediska následného využití potomstva

M. Kocour, V. Kašpar, D. Gela, M. Flajšhans

VYDÁNÍ PUBLIKACE BYLO USKUTEČNĚNO ZA FINANČNÍ PODPORY PROJEKTU:

Inovace prezenčního studia bakalářského studijního oboru Rybářství

(CZ.1.07/2.2.00/15.0076)

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

OBSAHOVÁ ČÁST METODIKY JE VÝSLEDKEM ŘEŠENÍ PROJEKTŮ:

90 % – Zachování biodiverzity u kulturních plemen kapra obecného

(MZe ČR NAZV QH82118)

10 % – CENAKVA – Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz

(OP VaVpI CZ.1.05/2.1.00/01.0024)

Na financování obsahové části metodiky se příspěvkem z neveřejných zdrojů financování podílel rovněž podnik:

Rybníkářství Pohořelice a.s., Vídeňská 717, 691 23 Pohořelice, IČ: 46961062

Poděkování

Autoři děkují poskytovatelům výše zmíněných projektů a podniku Rybníkářství Pohořelice a.s. za jejich finanční podporu. Autoři dále upřímně děkují Ing. Vladimírovi Chytkovi z Rybníkářství Pohořelice a.s. a dalšímu personálu z FROV JU a Rybníkářství Pohořelice a.s., bez jejichž pomoci by nebylo možné uskutečnit náročné experimenty, zhotovit publikace předcházející vzniku této metodiky a pracovat na řešení výše uvedených projektů.

Edice Metodik

ISBN 978-80-87437-54-4

OBSAH

I. CÍL METODIKY **6**
II. VLASTNÍ POPIS METODIKY **6**
1. Úvod **6**
2. Základní principy genetiky populací **8**
2.1. Genofond a jeho proměnlivost (variabilita) 8
2.2. Efektivní velikost populace (N_e) 9
2.3. Genetický drift, efekt zakladatele, efekt hrdla láhve 11
2.4. Inbríding 11
3. Vlastní způsoby osemeňování jiker při umělé reprodukci **14**
3.1. Počet ryb při umělé reprodukci 14
3.2. Umělý výtěr ryb 16
3.3. Způsoby tvorby rodin, resp. míchání pohlavních produktů 17
3.4. Způsoby osemeňování jiker 23
3.4.1. Heterospermické oplození 24
3.4.2. Semi-heterospermické oplození 26
3.4.3. Individuální oplození 28
4. Závěrečné shrnutí **32**
III. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ **34**
IV. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY **34**
V. EKONOMICKÉ ASPEKTY **35**
VI. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY **36**
VII. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE **38**

I. CÍL METODIKY

Umělá reprodukce ryb je běžně využívaným nástrojem v chovu ryb a obhospodařování volných vod. Při neodborném přístupu osob při provádění umělého výtěru s ohledem na účel jeho provádění může docházet k rychlému snižování genetické variability následných generací. Snižováním genetické variability se zvyšují rizika spojená s inbrídingem, jako jsou: snížení užitkovosti, životaschopnosti, odolnosti a adaptability ryb, snižování fitness (schopnosti předat své geny do dalších generací). Přímým důsledkem těchto jevů je snížení efektivity chovu, vymizení ohrožených druhů ryb či jejich genetických rezerv. Cílem této metodiky je:

- definovat kritické body při umělém výtěru ryb s ohledem na zachování skutečné efektivní velikosti populace a zajištění maximální možné genetické variability zakládaného potomstva,
- popsat způsoby tvorby rodin a osemeňování jiker při umělém výtěru vzhledem k účelu provádění umělého výtěru,
- nastínit klady, zápory a možnosti využití jednotlivých metod zejména s ohledem na zachování maximální možné genetické variability a rovnoměrnosti zastoupení jednotlivých genotypů (rodin) v potomstvu.

II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

1. ÚVOD

Umělá reprodukce ryb se v současné době běžně využívá v chovu ryb při tvorbě produkčních obsádek, obnově stavu plemenných ryb, uchování genetických zdrojů ryb i při produkci obsádek určených k zarybňování volných vod. Málokdo si ale uvědomuje, že způsob provedení umělé reprodukce (počet vytíraných ryb, volba způsobu tvorby rodin i vlastní způsob osemeňování jiker) hraje klíčovou roli ve vztahu k udržení genetické variability a rovnoměrnosti zastoupení potomků po jednotlivých rodičích v následných generacích. Udržování genetické variability následných generací je velmi důležité především tam, kde předpokládáme další využití nově vzniklé populace ryb v reprodukci nebo při nasazování ryb do volných vod za účelem podpory stavů původních populací ryb nebo za účelem reintrodukce (navrácení) původních druhů ryb do volných vod. Snižování genetické variability ryb může vést k nežádoucím efektům, jež mohou ohrozit existenci populací daných druhů ryb ve volných vodách nebo způsobit až zánik plemen či druhů ryb významných z chovatelského hlediska.

Ochrana biologické rozmanitosti (biodiverzity) je důležitá jak z pohledu ochrany životního prostředí, tak z pohledu chovu hospodářských zvířat. Biodiverzita je na zákla-

dě mezinárodní úmluvy OSN definována jako variabilita všech žijících organismů, včetně suchozemských, mořských a jiných vodních ekosystémů a ekologických komplexů, jejichž jsou součástí. Biodiverzita zahrnuje různorodost nejen mezi ekosystémy a druhy, ale i uvnitř druhů; ve světle současných vědomostí je možno ochranu biodiverzity chápat i jako ochranu genetické variability (diverzity). Povinnost chránit biodiverzitu je zakotvena v mnoha národních i mezinárodních právních předpisech. Je zbytečné zmiňovat, že ochránit biodiverzitu v kulturní krajině České republiky je stále větší problém, neboť lidská činnost se projevuje ve všech sférách. Ryby jsou součástí Národního program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství (dále jen Národní program), jenž vychází z několika zákonů a mezinárodních úmluv o ochraně biologické rozmanitosti. Cíle Národního programu s ohledem k živočišným druhům jsou přesně specifikovány v příslušném dokumentu MZe, stručně je lze charakterizovat následujícími body:

1. Zachovat a rozšířit „*ex situ*" kolekce, chovy a sbírky vyjmenovaných genetických zdrojů zvířat pro současné potřeby a potřeby budoucích generací s udržením existující diverzity genetických zdrojů zvířat a jejich využívání v produkčních systémech.
2. Zajistit dostupnost genetických zdrojů uchovávaných v České republice a relevantních informací pro domácí a zahraniční uživatele na základě jejich potřeb, v souladu s předpisy Evropské unie, přijatými mezinárodními úmluvami a normami platnými v České republice.
3. Vytvořit předpoklady pro efektivní a setrvávající využívání genetických zdrojů pro genetické zlepšování biologického potenciálu a hospodářských vlastností zvířat, v souladu s potřebami zemědělství, biotechnologií a zpracovatelského průmyslu.
4. Vytvořit předpoklady pro rozšíření a systematické využití agro-biodiverzity v zemědělské praxi a agrárním sektoru, pro zajištění setrvalého rozvoje zemědělství, kvality produkce a podporu jeho nevýrobních funkcí.
5. Podílet se na celosvětovém úsilí o uchování, setrvalé a spravedlivé využívání genetických zdrojů, podílet se na prospěchu, který vyplývá z jejich využití; přispět k uchování a využívání genofondů a biodiverzity v globálním měřítku.
6. Garantovat mezinárodní závazky České republiky na úseku genetických zdrojů významných pro výživu a zemědělství a zajistit jejich realizaci v resortu zemědělství.

Ochrana genetických zdrojů ryb se vztahuje na tyto druhy: kapr obecný, *Cyprinus carpio* (11 plemen); lín obecný, *Tinca tinca* (7 plemen); pstruh duhový, *Oncorhynchus mykiss* (3 plemena); pstruh potoční, *Salmo truta fario* (2 populace); sumec velký, *Silurus glanis* (2 populace), síh maréna, *Coregonus lavaretus maraena* – čistý druh, síh peleď, *Coregonus peled* – čistý druh, vyza velká, *Huso huso* – čistý druh, jeseter malý, *Acipenser ruthenus* – čistý druh (Flajšhans a kol., 2010). Všechna uvedená plemena, populace

či druhy ryb v tomto seznamu si zasluhují neustálou pozornost, neboť jsou zdrojem základní genetické rozmanitosti v oblasti rybářství. Ve volných vodách ČR je klasifikováno 44 % ichtyofauny jako druhy ohrožené, z nichž 18 % představují druhy kriticky ohrožené (11 druhů), 10 % druhy ohrožené (6 druhů) a 16 % druhy zranitelné (10 druhů). Současně 7 % druhů je klasifikováno jako druhy téměř ohrožené (4 druhy). Jako regionálně vymizelých je hodnoceno 16 % ichtyofauny (10 druhů) (Lusk a kol., 2004).

Chov ryb i systematické obhospodařování volných vod s vysazováním plůdků a násad získaných umělou reprodukcí má v ČR již dlouholetou tradici. Způsob provedení umělé reprodukce je ale nezbytné volit s ohledem na účel jeho provádění, aby nedošlo k napáchání vyšších škod než užitku. Před vlastním provedením umělého výtěru a způsobu využití získaného potomstva je proto vhodné seznámit se s touto metodikou.

2. ZÁKLADNÍ PRINCIPY GENETIKY POPULACÍ

2.1. Genofond a jeho proměnlivost (variabilita)

Genofondem rozumíme soubor všech genotypů jedinců, jež tvoří populaci nebo druh. Genofond je výsledkem dlouhodobých evolučních procesů, u domestikovaných nebo chovaných druhů, plemen a linií je pak výsledkem mnoha generací cílené i nezáměrné selekce. Genofond není neměnný, je to dynamický, v čase proměnlivý systém, který se nepřetržitě adaptuje na zcela specifické abiotické (fyzikální, chemické) a biotické podmínky svého prostředí. Nejdůležitější vlastností genofondu je jeho genetická proměnlivost (variabilita) a naším cílem je zachování co možná největší šíře této proměnlivosti. Je to proto, že evoluční přizpůsobivost druhů/populací je funkcí rozsahu genetické proměnlivosti. Ztráta této proměnlivosti má za následek ubývání evoluční adaptability, což zvyšuje pravděpodobnost vyhynutí druhu/populace. Toto je případ ohrožených druhů či populací, protože jejich současný genofond představuje pouze část dříve většího a proměnlivějšího souboru. Jako příklad lze uvést současnou situaci populací ostroretky stěhovavé, *Chondrostoma nasus*, vysoce potamodromního druhu, jehož populace jsou vlivem lidských aktivit velmi fragmentovány (Flajšhans a kol., 2008).

Proměnlivost genofondu je posuzována na dvou úrovních, a to na vnitropopulační a mezipopulační. V obou případech se dnes pro popis proměnlivosti používají především různé molekulárně genetické márkery (jaderné i mitochondriální). Proměnlivost vnitropopulační je dána především velikostí dané populace, resp. efektivní velikostí populace (N_e). Proměnlivost mezipopulační charakterizuje historický vývoj a šíření druhu a v mnoha případech bylo prokázáno, že různé izolované populace stejného druhu mají velmi odlišný genetický profil. Kombinace údajů o vnitropopulační a mezipopu-

lační genetické variabilitě druhu podá údaje o vnitrodruhovém rozložení genetické variability. Distribuce této genetické variability mezi lokalitami, mezi povodími a mezi hlavními identifikovanými liniemi druhu pak v praktické rovině určuje, odkud lze provádět posilování populací, případně provádět repatriační transfery. Je například známo, že vnitrodruhová genetická variabilita je kromě jiného silně ovlivněna obývaným habitatem, typem chování a migračními schopnostmi. Reofilní druhy obývající počátky toků (např. rody střevle, *Phoxinus,* ouklejka, *Alburnoides,* mřenka, *Barbatula,* vranka, *Cottus*) mají obvykle daleko vyšší vnitrodruhovou populační genetickou diverzitu než druhy obývající dolní úseky toků, např. parma obecná, *Barbus barbus*, nejnižší diverzita bývá u druhů potamodromních (např. ostroretka stěhovavá, *Chondrostoma nasus*). Podobně nízkou vnitrodruhovou diverzitu mají predátoři, např. štika obecná, *Esox lucius*, u které způsob života a reprodukční strategie způsobuje permanentní mezigenerační efekt hrdla láhve (*bottleneck*). Všechny tyto znalosti a údaje jsou proto nesmírně důležité pro přijetí konkrétních ochranářských opatření u daného druhu či plemene (Flajšhans a kol., 2008).

2.2. Efektivní velikost populace (N_e)

Již bylo zmíněno, že efektivní velikost populace (N_e) ovlivňuje vnitropopulační proměnlivost (variabilitu). Efektivní velikost populace vyjadřuje počet úspěšně se rozmnožujících jedinců a je tou hodnotou, která rozhoduje o genetické variabilitě populací. Hodnota N_e je důležitá především tam, kde se počet jedinců v populaci liší od počtu rozmnožovaných (rozmnožujících se) jedinců. Takovým příkladem jsou i situace při umělém výtěru ryb. Zde se z příslušné populace zpravidla vybírají pouze jedinci k reprodukci nejlépe připravení, a to v počtu ryb, jejichž reprodukcí získáme požadovaný počet váčkového plůdku. Vzhledem k vysoké plodnosti ryb, zejména u kapra obecného, je potřebný počet ryb na obnovu generačního hejna velmi nízký. Pokud ale vybíráme malý počet ryb k založení příští generace, radikálně tím měníme původní genetickou variabilitu populace/plemene. Platí tedy, že čím vyšší bude N_e, tím vyšší lze očekávat genetickou variabilitu, a hlavně tím větší je pravděpodobnost, že daná variabilita zůstane v populaci zachována. Pokud dojde k výraznému poklesu N_e, může dojít ke změně nebo posunu genetické variability či četnosti některých alel v následných generacích a restaurace původní genetické variability (alelových četností) v populaci bude velmi složitá nebo nemožná. Efektivní velikost populace je závislá nejen na počtu rozmnožujících se jedinců, ale i na počtu rozmnožujících se samců a samic. Efektivní velikost populace lze vyjádřit následujícím vzorcem:

$$N_e = \frac{4 N_m N_f}{N_m + N_f} \qquad (1)$$

kde N_m je počet samců a N_f je počet samic použitých k reprodukci. Ze vzorce je patrné, že pokud k reprodukci využijeme pouze jednu samici nebo samce, nebude efektivní velikost populace nikdy větší než 4, bez ohledu na to, kolik jedinců druhého pohlaví se reprodukce zúčastní (N_e = (4 * 1 * 1 000) / 1 + 1 000 = 3,996). Z obecného hlediska je nejvýhodnější používat k reprodukci stejný počet samců i samic, protože pak se efektivní velikost populace rovná počtu použitých jedinců. Z praktického hlediska není ale vždy toto řešení možné, a proto se doporučuje použít co nejvyrovnanější poměr pohlaví, protože s ohledem na efektivní velikost populace jen velmi těžce nahradíme malý počet jedinců jednoho pohlaví velkým počtem jedinců pohlaví druhého (Flajšhans a kol., 2008).

Kromě zajištění dostatečně vysoké N_e v dané generaci je důležité hlídat a znát celkovou průměrnou hodnotu N_e v průběhu celé historie existence dané populace/plemene. Je nezbytné, aby se N_e v průběhu generací výrazně neměnila, neboť výrazné snížení N_e v jednom z období značně ovlivní celkovou průměrnou hodnotu N_e, tzv. kolísavou (proměnlivou) efektivní velikost populace (N_{ev}). Kolísavá efektivní velikost populace za delší časové období se spočítá jako harmonický průměr N_e v jednotlivých obdobích:

$$\boldsymbol{N_{ev}} = \frac{1}{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\frac{1}{N_{ei}}} \qquad (2)$$

kde $\boldsymbol{n}$ je počet generací, za něž kolísavou efektivní velikost populace počítáme, a $\boldsymbol{N_{ei}}$ je efektivní velikost populace v dané generaci (Relichová, 2009).

Příklad výpočtu N_{ev} si můžeme objasnit na následující situaci: U plemene kapra obecného M2 jsme v průběhu 6 generací obnovovali generační hejno umělým výtěrem z následujícího počtu generačních ryb (poměr pohlaví 1 : 1) 50, 80, 100, 20, 125 a 200. Efektivní velikost populace za celé období vypočteme:

$$\boldsymbol{N_{ev}} = \frac{1}{\frac{1}{6}*\left(\frac{1}{50}+\frac{1}{80}+\frac{1}{100}+\frac{1}{20}+\frac{1}{125}+\frac{1}{200}\right)} = \frac{1}{\frac{1}{6}*0{,}1055} = \frac{1}{0{,}017583} = 56{,}9$$

Z výpočtu je patrné, že ač jsme v některém z období používali velký počet jedinců k založení následné generace, $\boldsymbol{N_{ev}}$ se pohybuje na úrovni hodnot, kdy jsme měli počet rodičů poměrně nízký.

Nedávné výzkumy při umělém výtěru ryb ukázaly, že mezi spermiemi různých samců při tzv. heterospermickém oplození (osemenění jiker v jedné misce spermatem více samců) existuje kompetice (soutěživost). Tato metoda tak může výrazně snížit efektivní velikost populace až o 30% (Kašpar a kol., 2007 a 2008; Withler, 1988; Withler a Beacham, 1994). Při umělém výtěru ryb tedy nezáleží jen na počtu použitých ryb k založení nové generace, ale i na způsobu zvoleného osemeňování jiker.

2.3. Genetický drift, efekt zakladatele, efekt hrdla láhve

Genetický drift, efekt zakladatele, efekt hrdla láhve jsou jevy, ke kterým dochází v populacích o malém počtu jedinců, resp. s nízkou hodnotou N_e. Důsledkem těchto jevů mohou být:

- snížení průměrné heterozygotnosti v populaci (zvýšení příbuznosti),
- náhlá a náhodná změna četnosti některých alel oproti předchozím generacím,
- snížení genetické variability (ztráta nebo fixace některých alel),
- diferenciace subpopulací daného druhu či plemene.

Míra dopadu jednotlivých jevů na populace ryb, kterých se to týká, je nepřímo úměrná výši N_e. Čím vyšší je N_e, tím nižší je pravděpodobnost, že k výše uvedeným jevům dojde, resp. dopad těchto jevů bude méně výrazný. Nelze předpovědět směr změny frekvencí alel, ale pouze velikost a rozsah této změny. Velikost genetického driftu je dána variancí alelových četností s^2 a určována směrodatnou odchylkou s (Relichová, 2009). V případě existence dvou alel (p a q) v populaci o počtu rodičů (N) vypočteme varianci a směrdodatnou odchylku četnosti alel dle vzorce:

$$s^2_{(p;q)} = \frac{p * q}{2N} = \frac{p(1-p)}{2N} \qquad (3)$$

$$s_{(p;q)} = \sqrt{\frac{p * q}{2N}} \qquad (4)$$

Uvedené jevy se vyskytují zpravidla tam, kde z nějakého důvodu došlo k úhynu velké části původní populace, její izolaci či omezení reprodukce (např. výstavbou bariér při třecích migracích nebo znehodnocením životního prostředí). Jevy se objevují i přirozeně bez zásahu člověka a má se za to, že jsou vedle přírodní selekce, mutací a migrací jednou z evolučních sil. K uvedeným jevům často docházelo a dochází i při umělém výtěru ryb, kdy je k výtěru vybírána jen nepatrná část generačního hejna k získání potřebného počtu váčkového plůdku. Při obnově genetických zdrojů ryb nebo nasazování ryb do volných vod nám jde ale o to tyto jevy minimalizovat a udržovat populace v původním stavu. Z tohoto důvodu je nezbytné provádět umělou reprodukci způsobem, který zohlední zamýšlený účel.

2.4. Inbríding

Inbríding (někdy nahrazován anglickým termínem *inbreeding*) je druhem nenáhodného oplození, při kterém dochází k oplození mezi příbuznými jedinci častěji, než by se dalo očekávat na základě náhodnosti (Relichová, 2009). K inbrídingu dochází čas-

těji u malých populací (s nízkou hodnotou N_e). Mezi takové populace je možné v celé řadě případů počítat i generační hejna ryb na rybích farmách nebo u divokých populací, které jsou od ostatních populací stejného druhu izolovány bez možnosti migrací nebo jen s malým počtem migrací. Inbríding je ve šlechtění někdy používán i záměrně, neboť jím můžeme fixovat některé žádoucí znaky a vytvářet nové linie/plemena ryb. Důsledkem inbrídingu je zvyšování homozygotnosti a pokles heterozygotnosti v populacích, čímž se ale zvyšuje i riziko výskytu letálních či jinak nežádoucích genů v homozygotně recesivní sestavě. Při projevu těchto nežádoucích genů dochází k jevu nazývanému **inbrední deprese**, která se vyznačuje celkovým poklesem reprodukční zdatnosti (fitness) – zhoršení fyziologických funkcí, schopnosti reprodukce, odolnosti atd. (Flajšhans a kol., 2008).

Inbríding se objevuje v chovech ryb více než u jiných hospodářských zvířat. Vysoká reprodukční schopnost ryb totiž umožňovala zakládat generační hejna ryb jen z několik jedinců odchycených z divokých populací. I dnes se pro obnovu generačních hejn v chovatelské praxi běžně používá nízký počet rodičů. Ryby, korýši a měkkýši jsou obecně k účinkům inbrídingu, tedy inbrední depresi, méně citliví než vyšší organismy (ptáci, savci apod.). I přesto je nutno extrémním důsledkům inbrídingu předcházet, neboť tento jev může i v chovu ryb způsobit velké ekonomické ztráty. Ze studií prováděných u ryb a dalších vodních živočichů vyplývá, že inbrední deprese u růstu činí 0,8–3,3 % na každých 10 % inbrídingu (Su a kol., 1996; Pante a kol., 2001; Neira a kol., 2006; Moss a kol., 2007). Kromě růstu dochází ke snížení reprodukční schopnosti ryb, líhnivosti jiker a přežití raných stádií ryb (Su a kol., 1996; Fessehaye a kol., 2009), a to na úrovni až kolem 10 %.

Inbríding vyjadřujeme koeficientem inbreedingu ΔF. Koeficient inbreedingu udává pravděpodobnost, s jakou jsou dvě alely na jednom lokusu u daného jedince stejného původu (tedy že obě pochází od stejného předka). Z tohoto hlediska rozlišujeme alely jednoho alelického páru (na jednom lokusu) jako autozygotní a allozygotní. Autozygotní alely jsou identické podle původu, tzn. že vznikly replikací jedné alely v jednom ze společných předků. Allozygotní jsou takové, které nepochází z replikace jediné alely společného předka. Koeficient inbrídingu v populaci s náhodným pářením je možno vyjádřit jako:

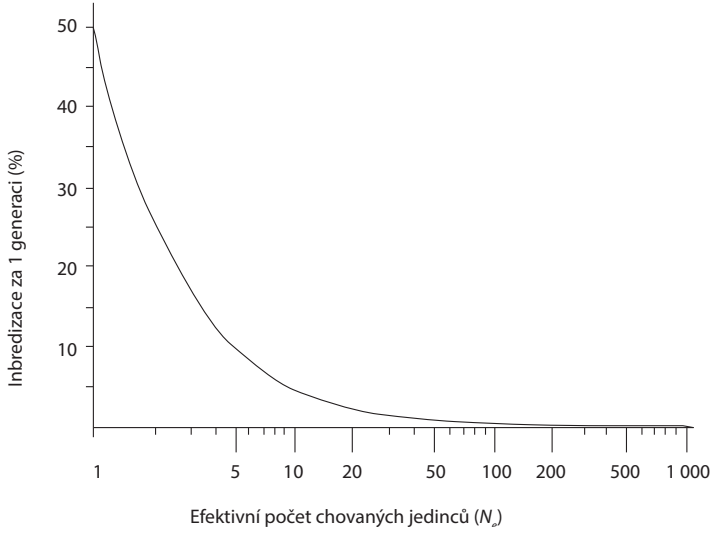
$$\Delta F = \frac{1}{2\,N_e} \qquad (5)$$

kde N_e je efektivní velikost populace, neboli počet jedinců zapojených do reprodukce (Flajšhans a kol., 2008). Vztah mezi předpokládaným koeficientem inbrídingu v závislosti na počtu samic a samců zapojených do reprodukce je uveden v tab. 1.

Tab. 1. *Výše koeficientu inbrídingu v závislosti na počtu samic a samců zapojených do reprodukce (upraveno dle Tavea, 1986).*

Počet	Počet samců																					
samic	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250	∞
1	25,00	18,75	16,67	15,62	15,00	14,58	14,29	14,06	13,89	13,75	13,12	13,00	12,75	12,67	12,62	12,60	12,58	12,57	12,56	12,56	12,55	12,50
2	18,75	12,50	10,42	9,38	8,75	8,33	8,04	7,81	7,64	7,50	6,88	6,75	6,50	6,42	6,38	6,35	6,33	6,32	6,31	6,31	6,30	6,25
3	16,67	10,42	8,33	7,29	6,67	6,25	5,95	5,73	5,56	5,42	4,79	4,67	4,42	4,33	4,29	4,27	4,25	4,24	4,23	4,22	4,22	4,17
4	15,62	9,38	7,29	6,25	5,62	5,21	4,91	4,69	4,51	4,38	3,75	3,62	3,38	3,29	3,25	3,22	3,21	3,20	3,19	3,18	3,18	3,12
5	15,00	8,75	6,67	5,62	5,00	4,58	4,29	4,06	3,89	3,75	3,12	3,00	2,75	2,67	2,62	2,60	2,58	2,57	2,56	2,56	2,55	2,50
6	14,58	8,33	6,25	5,21	4,58	4,17	3,87	3,65	3,47	3,33	2,71	2,58	2,33	2,25	2,21	2,18	2,17	2,15	2,15	2,14	2,13	2,08
7	14,29	8,04	5,95	4,91	4,29	3,87	3,57	3,35	3,17	3,04	2,41	2,29	2,04	1,95	1,91	1,89	1,87	1,86	1,85	1,84	1,84	1,79
8	14,06	7,81	5,73	4,69	4,06	3,65	3,35	3,12	2,95	2,81	2,19	2,06	1,81	1,73	1,69	1,66	1,65	1,63	1,62	1,62	1,61	1,56
9	13,89	7,64	5,56	4,51	3,89	3,47	3,17	2,95	2,78	2,64	2,01	1,89	1,64	1,56	1,51	1,49	1,47	1,46	1,45	1,44	1,44	1,39
10	13,75	7,50	5,42	4,38	3,75	3,33	3,04	2,81	2,64	2,50	1,88	1,75	1,50	1,42	1,38	1,35	1,33	1,32	1,31	1,31	1,30	1,25
20	13,12	6,88	4,79	3,75	3,12	2,71	2,41	2,19	2,01	1,88	1,25	1,12	0,88	0,79	0,75	0,72	0,71	0,70	0,69	0,68	0,68	0,62
25	13,00	6,75	4,67	3,62	3,00	2,58	2,29	2,06	1,89	1,75	1,12	1,00	0,75	0,67	0,62	0,60	0,58	0,57	0,56	0,56	0,55	0,50
50	12,75	6,50	4,42	3,38	2,75	2,33	2,04	1,81	1,64	1,50	0,88	0,75	0,50	0,42	0,38	0,35	0,33	0,32	0,31	0,31	0,30	0,25
75	12,67	6,42	4,33	3,29	2,67	2,25	1,95	1,73	1,56	1,42	0,79	0,67	0,42	0,33	0,29	0,27	0,25	0,24	0,23	0,22	0,22	0,17
100	12,62	6,38	4,29	3,25	2,62	2,21	1,91	1,69	1,51	1,38	0,75	0,62	0,38	0,29	0,25	0,22	0,21	0,20	0,19	0,18	0,18	0,12
125	12,60	6,35	4,27	3,22	2,60	2,18	1,89	1,66	1,49	1,35	0,72	0,60	0,35	0,27	0,22	0,20	0,18	0,17	0,16	0,16	0,15	0,10
150	12,58	6,33	4,25	3,21	2,58	2,17	1,87	1,65	1,47	1,33	0,71	0,58	0,33	0,25	0,21	0,18	0,17	0,15	0,15	0,14	0,13	0,08
175	12,57	6,32	4,24	3,20	2,57	2,15	1,86	1,63	1,46	1,32	0,70	0,57	0,32	0,24	0,20	0,17	0,15	0,14	0,13	0,13	0,12	0,07
200	12,56	6,31	4,23	3,19	2,56	2,15	1,85	1,62	1,45	1,31	0,69	0,56	0,31	0,23	0,19	0,16	0,15	0,13	0,12	0,12	0,11	0,06
225	12,56	6,31	4,22	3,18	2,56	2,14	1,84	1,62	1,44	1,31	0,68	0,56	0,31	0,22	0,18	0,16	0,14	0,13	0,12	0,11	0,11	0,06
250	12,55	6,30	4,22	3,18	2,55	2,13	1,84	1,61	1,44	1,30	0,68	0,55	0,30	0,22	0,18	0,15	0,13	0,12	0,11	0,11	0,10	0,05
∞	12,50	6,25	4,17	3,12	2,50	2,08	1,79	1,56	1,39	1,25	0,62	0,50	0,25	0,17	0,12	0,10	0,08	0,07	0,06	0,06	0,05	0,00

Závislost mezi výší efektivní velikosti populace a procentem inbrídingu lze také vyjádřit graficky (obr. 1).



Obr. 1. *Závislost mezi efektivní velikostí populace a koeficientem inbrídingu za jednu generaci (upraveno dle Tavea, 1986).*

Z tab. 1 a obr. 1 je viditelné, jak se s rostoucí velikostí rodičovské populace použité k reprodukci míra inbredizace za generaci snižuje. Podle této závislosti byla dle materiálů FAO (FAO, 1981) stanovena pro omezení inbrídingu minimální N_e hospodářských zvířat v počtu alespoň 50 jedinců (inbríding 1 % za generaci). Vzhledem ke zranitelnosti rybí populace používá současná evropská praxe dvojnásobnou hodnotu. Tento počet odráží potřebnou efektivní velikost populace každého plemene či populace $N_e = 100$. Zhruba od této hodnoty již přestává být další snižování příbuznosti významné, zatímco pracnost reprodukce se zvyšujícím se počtem rodičů chovateli stále přibývá. K tomuto počtu se, vzhledem ke specifičnosti chovu ryb v rybnících nebo nádržích, možným ztrátám onemocněním, otravou nebo znečištěním přítokové vody, pytlačením, únikem ryb při povodni apod., ročně připočítává 20 % rezerva. Základní chovnou jednotkou každého genetického zdroje ryb je tedy kmenové hejno o 120 kusech (Flajšhans a kol., 2009). Kmenové hejno sestává z generačních ryb, resp. z generačních a remontních ryb u druhů, kde je velikost kmenového hejna limitována zootechnickou náročností nebo vzácností jedinců daného genetického zdroje (sumec velký, vyza velká).

3. VLASTNÍ ZPŮSOBY OSEMEŇOVÁNÍ JIKER PŘI UMĚLÉ REPRODUKCI

3.1. Počet ryb při umělé reprodukci

Z informací v kapitole 2 vyplývá, proč a jak byla stanovena minimální velikost populace ryb určených k umělé reprodukci. S ohledem na technické možnosti a způsob chovu ryb v České republice, ale i s ohledem na biologii ryb, nelze předpokládat, že bude možné při jediném umělém výtěru nebo v jedné výtěrové sezóně využít všechny jedince daného generačního hejna (populace, plemene) k obnově generačního hejna nebo k produkci násad pro jejich nasazování do volných vod. Pro jednotlivé druhy ryb byly doporučeny následující intervaly úplné obnovy generačních hejn (Flajšhans a kol., 2008):

- 3–4 roky u síha marény a síha peledě,
- 4–6 let u pstruha duhového a pstruha obecného,
- 6–8 let u kapra obecného, lína obecného, sumce velkého, jesetera malého,
- pravděpodobně 20–25 let u vyzy velké.

Dále bylo u ryb a plemen ryb zařazených do genetických zdrojů v rámci národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství stanoveno, že umělý výtěr ryb za účelem obnovy stavu plemenných ryb musí být v jednom daném čase prováděn s využitím minimálně 15 samic a 25 samců (Flajšhans a kol., 2009). Jedince vzniklé v rámci jednoho výtěru označujeme termínem chovná skupina. Každá chovná skupi-

na tak musí být založena s využitím takového počtu rodičů, který odpovídá N_e = 37,5. Vlastní hodnota efektivní velikosti populace je mnohem důležitější než počet ryb použitých při umělém výtěru. Abychom dosáhli čísla N_e = 37,5 nebo vyšší, musíme použít minimálně 10 jedinců jednoho z pohlaví. Použijeme-li méně než 10 jedinců jednoho pohlaví, nemůžeme jakýmkoliv počtem druhého pohlaví hodnoty N_e = 37,5 již nikdy dosáhnout. Pokud požijeme 10 jedinců jednoho pohlaví, budeme k dosažení hodnoty N_e = 37,5 potřebovat 150 jedinců pohlaví druhého. Závislost mezi počtem jedinců jednoho a druhého pohlaví k dosažení požadované minimální efektivní velikosti populace při umělém výtěru v daném čase, tedy při tvorbě chovné skupiny, ukazuje tab. 2.

Tab. 2. *Přehled potřebného počtu rodičů druhého pohlaví (B) při daném počtu rodičů pohlaví prvého (A), abychom dosáhli hodnotu $N_e \geq 37,5$ (N_{e1}). N_{e2} ukazuje, jaká bude hodnota N_e, použijeme-li u druhého pohlaví o jednoho jedince méně (B - 1).*

Počet rodičů (A)	Počet rodičů (B)	Hodnota N_{e1}	Počet jedinců (B - 1)	Hodnota N_{e2}
10	150,0	37,50	–	–
11	64,0	37,55	63,0	37,46
12	43,0	37,53	42,0	37,33
13	34,0	37,62	33,0	37,30
14	29,0	37,77	28,0	37,33
15	25,0	37,50	–	–
16	23,0	37,74	22,0	37,05
17	21,0	37,58	20,0	36,76
18	20,0	37,89	19,0	36,97
19	19,0	38,00	18,0	36,97
20	18,0	37,89	17,0	36,76
21	17,0	37,58	16,0	36,32
22	17,0	38,36	16,0	37,05
23	16,0	37,74	15,0	36,32
24	16,0	38,40	15,0	36,92
25	15,0	37,50	–	–
26	15,0	38,05	14,0	36,40
27	15,0	38,57	14,0	36,88
28	15,0	39,07	14,0	37,33
29	14,0	37,77	13,0	35,90
30	14,0	38,18	13,0	36,28
31	14,0	38,58	13,0	36,64
32	14,0	38,96	13,0	36,98
33	14,0	39,32	13,0	37,30
34	13,0	37,62	12,0	35,48

Číslo N_e = 37,5 nám rovněž naznačuje, že abychom dodržovali při obnově stavu plemenných ryb doporučenou hodnotu N_e = 100 (viz kapitola 2.4.), je zapotřebí opakovat umělý výtěr minimálně třikrát (3 * 37,5 = 112,5), a to za použití vždy jiných ryb, resp. počet ryb, které se mezi výtěry budou opakovat, může být maximálně 12. Generační hejno ryb se tak bude skládat minimálně ze tří chovných skupin. Pokud je z nějakých důvodů nutné obnovit plemenné ryby dříve, je zapotřebí v jednom výtěru adekvátně zvýšit počet použitých samic a samců. Platí přitom, že čím blíže se budeme držet poměru pohlaví 1 : 1, tím nižší počet ryb pro dosažení požadované efektivní velikosti populace budeme potřebovat. V tomto případě může být počet chovných skupin v generačním hejnu nižší než 3.

3.2. Umělý výtěr ryb

Umělý výtěr se liší druh od druhu a autoři této metodiky předpokládají, že uživatelé metodiky jsou znalí všech nezbytných kroků pro úspěšný umělý výtěr ryb, tedy selekce vhodných jedinců, vlastní předvýtěrové přípravy včetně výživy, indukce ovulace či spermiace (jsou-li nezbytné), techniky vlastního umělého výtěru pro získání kvalitních pohlavních produktů a případně povýtěrové péče o plemenné ryby za účelem jejich úspěšné regenerace a přípravy na další výtěrové období. Pro rekapitulaci jsou v tabulce 3 odkazy na jednotlivé metodiky, kde je možné umělý výtěr jednotlivých druhů ryb nastudovat. Důležité je, aby pohlavní produkty (jikry a sperma) každé vytírané ryby byly odebírány jednotlivě, tedy od každého jedince do zvláštní nádoby. Jikry se zpravidla odebírají do různých suchých plastových misek a lavorů (dle velikosti a předpokládaného množství jiker), mlíčí pak dle druhu ryb do injekčních stříkaček, zkumavek, kádinek či jiných kontejnerů. Je nezbytné počítat s tím, že pro některé účely (zejména zachování či obnovu plemenných ryb či produkci násadového materiálu pro jeho nasazování do volných vod) bude nezbytné pohlavní produkty krátkodobě uchovávat. Jikry se uchovávají v miskách při teplotě okolního prostředí, v kterém výtěr provádíme, nebo při teplotě o něco málo nižší. Jikry nesmějí vyschnout, proto každou misku pevně uzavřeme víčkem nebo jikry překrýváme navlhčeným hadrem. Sperma (mlíčí) uchováváme při teplotě 2–4 °C v různých tepelně izolovaných krabicích či termotaškách s ledem nebo přímo v lednici. Jikry ani sperma nesmějí při krátkodobém uchování přijít do přímého kontaktu s vodou. Je-li to nezbytné z hlediska zachování kvality spermatu, využíváme při odběru mlíčí imobilizační roztoky. Ihned po výtěru před krátkodobým uchováním je nezbytné každou nádobu s pohlavním produktem náležitě označit (nesmazatelně popsat, např. lihovým fixem) s vyznačením nezbytných údajů tak, aby nedošlo k záměně druhu, plemene, populace, jedinců apod.

Jelikož se kvalita pohlavních produktů může v rámci umělého výtěru značně lišit, je vždy vhodné k výtěru zařadit větší počet ryb, než jaký potřebujeme s ohledem na po-

žadované množství váčkového plůdku nebo dodržení minimální efektivní velikosti populace. Toto opatření nám dává možnost na základě vizuálního posouzení kvality pohlavních produktů vybrat přednostně k dalším krokům tvorby dceřiných populací ty jedince, kteří mají pohlavní produkty nejlepší kvality. Zařazení jedinců s horší kvalitou produktů může vést ke zbytečnému snížení oplozenosti jiker, v konečném důsledku i ke snížení genetické variability založeného potomstva. Postup hodnocení kvality pohlavích produktů je zpravidla uveden v metodikách umělého výtěru jednotlivých druhů ryb. Postup hodnocení kvality čerstvého spermatu je rovněž popsán v metodice Linharta a kol. (2011).

Tab. 3. *Odkazy na metodiky umělých výtěrů jednotlivých druhů ryb z edice VÚRH (VÚRH JU, FROV JU).*

Druh ryby	Reference
Kapr obecný	Gela a kol. (2009)
Lín obecný	Kouřil a Podhorec (2011)
Sumec velký	Linhart a kol. (2001)
Pstruh obecný potoční	Randák a kol. (2009)
Lipan podhorní	Randák a kol. (2009)
Jeseteři	Gela a kol. (2008)
Okoun říční	Policar a kol. (2011)
Candát obecný	Musil a kol. (2006)
Parma obecná	Policar a kol. (2009)
Jelec jesen	Hamáčková a kol. (2008a)
Ostroretka stěhovavá	Hochman a Peňáz (1989)
Podoustev říční	Hamáčková a kol. (2008b)
Hrouzek obecný	Kouřil a kol. (2008)
Perlín ostrobřichý	Kouřil a kol. (2008)
Mník jednovousý	Pokorný a Adámek (1997)

3.3. Způsoby tvorby rodin, resp. míchání pohlavních produktů

K dispozici je několik různých postupů míchání dostupných pohlavních produktů při umělém výtěru. Důležité je volit takový způsob, který nejlépe odpovídá účelu prováděného umělého výtěru s přihlédnutím k náročnosti a efektivitě daného postupu. V zásadě umělý výtěr provádíme za následujícími účely:

1. **Produkce násadového materiálu pro užitkové chovy** – jedná se o tvorbu obsádek určených pro konečného spotřebitele (zákazníka). V tomto případě nám jde pouze o co nejvyšší efektivitu chovu. Vlastní genetická variabilita takových obsádek není podstatná, nezáleží tedy ani na počtu použitých rodičů pro tvorbu takových obsádek. Počty ryb se volí zpravidla s ohledem na potřebu násadového materiálu a vybírají se takové ryby (takoví rodiče), u kterých

předpokládáme, že dají vzniknout potomstvu s nejlepšími užitkovými vlastnostmi (ryby můžeme selektovat). Je ale nutné si uvědomit, že u takových druhů ryb, kde není prováděn systematický selekční program a kde jsou ryby chovány v přírodě blízkých podmínkách (např. rybniční hospodaření), může být i v tomto případě vyšší genetická variabilita obsádky zárukou dosahování stabilnějších užitkových parametrů (přežití, růstu apod.). Do této kategorie spadají i ty druhy ryb, které jsou vysazovány do volných vod pro účely sportovního rybolovu, ale jsou druhy nepůvodními, které se v přírodě běžně nerozmnožují nebo jejich stálý výskyt ve volných vodách není žádoucí. Rovněž sem můžeme řadit ryby určené pro okrasné účely (do akvárií a zahradních jezírek).

2. **Produkce násadového materiálu pro experimentální obsádky** – jedná se zpravidla o tvorbu obsádek pro testování užitkovosti ryb nebo jiné experimenty, kdy nám jde o to postihnout vlastnosti či chování příslušné linie, plemene, skupiny nebo druhu jako celku. Abychom byli takového vyhodnocení schopni, je důležité zahrnout do experimentu reprezentativní část genetického pozadí příslušné populace, což zajistíme pouze zařazením dostatečného počtu jedinců do reprodukce. Podle charakteru či účelu experimentu se mohou počty lišit, pro účely testování užitkovosti ryb byla $\boldsymbol{N_e}$ stanovena ve výši 37,5 (cca jedna třetina počtu jedinců v generačním hejnu ryb) (Flajšhans a kol., 2008).
3. **Produkce násadového materiálu určeného k vysazování do volných vod** – jedná se o produkci ryb určených k podpoře stavů přirozených obsádek tam, kde je přirozená reprodukce nedostatečná, nebo o reintrodukci (navrácení) původních druhů ryb do lokalit, kde se dříve vyskytovaly, ale z kterých vymizely. V tomto případě je nejdůležitější dbát na co nejširší genetickou variabilitu obsádek a zároveň o zajištění rovnoměrného zastoupení jednotlivých genotypů (rodin), a proto se snažíme zajistit $\boldsymbol{N_e} \geq 100$, resp. 37,5 při každém jednotlivém výtěru. Při reintrodukcích nám toto opatření zajistí zvýšení pravděpodobnosti úspěšného znovuosídlení lokalit a udržení takových druhů v dlouhodobém horizontu. Při podpoře přirozených populací je vysoká genetická variabilita vysazovaných obsádek důležitá, rovněž je ale nutné dbát na to, aby genetický profil nasazovaných ryb byl blízký profilu původních populací, abychom se vyvarovali rizik spojených s outbrední depresí při křížení původních a nasazovaných populací.
4. **Produkce násadového materiálu za účelem obnovy stavu generačního hejna (plemenných ryb)** – účelem tohoto opatření je obnova plemenných ryb, nezáleží přitom na tom, pro jaký účel tyto plemenné ryby využíváme. Vždy je nezbytné dbát na zachování maximální genetické variability následných generací a zajištění rovnoměrného zastoupení jednotlivých genotypů (rodin), proto se snažíme zajistit $\boldsymbol{N_e} \geq 100$, resp. 37,5 při každém jednotlivém

výtěru, tedy tvorbě dané chovné skupiny. Důležité je dbát zejména na minimální hodnoty N_e u těch hejn, jež jsou genetickými zdroji nebo jsou využívána pro produkci násad určených k vysazování do volných vod za účelem podpory stavu přirozených populací či za účelem reintrodukce takových druhů ryb.

Z hlediska míchání pohlavních produktů v rámci jednoho výtěru (vzniku chovné skupiny) se nabízejí následující možnosti:

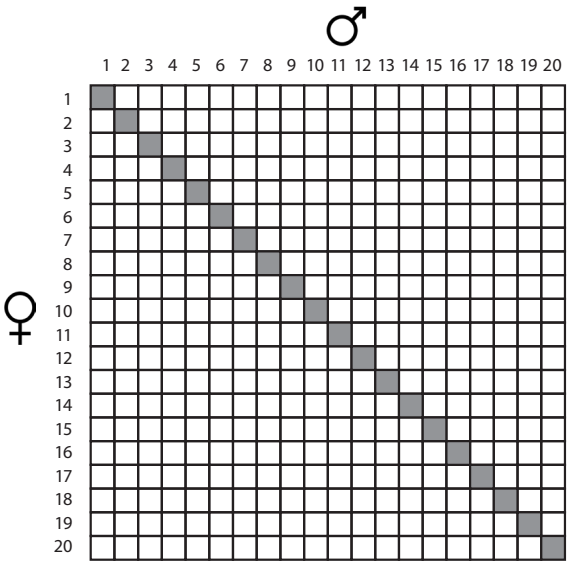
A) **Schéma jednotlivých párů (obr. 2)** – způsob, při kterém jsou spermatem jednoho samce (otce) oplodněny jikry jedné samice (matky). Výsledkem jsou jen skupiny vlastních sourozenců (sourozenci s oběma stejnými rodiči) bez vzájemných příbuzenských poměrů mezi dalšími skupinami. Zvolení tohoto schématu se nedoporučuje u žádného z výše uvedených důvodů provádění umělého výtěru. Využití schématu je odůvodněné v případech, kdy není možné zajistit synchronizaci ovulace či spermiace většího počtu ryb (např. u jeseterů).

Výhody:

- metoda není závislá na synchronizaci dostupnosti pohlavních produktů všech rodičů v jednom čase,
- zpravidla nevyžaduje ani krátkodobé uchování pohlavních produktů – nehrozí zhoršení oplozeníschopnosti uchováváním (stárnutím),
- v rámci dané chovné skupiny nejsou mezi jedinci mimo daný rodičovský pár žádné jiné příbuzenské vztahy.

Nevýhody:

- může být časově i technicky náročné,
- nízký počet úplných rodin rovnající se pouze počtu rodičovských párů,
- předpokládaná nejnižší možná genetická variabilita (s ohledem na počet vzniklých genotypů),
- pravděpodobnost křížení příbuzných jedinců je v celkovém měřítku nejvyšší ze všech schémat,
- závislost na náhodnosti zvolených rodičovských párů okolnostmi nebo osobami provádějícími daný umělý výtěr,
- při použití pohlavních produktů různé kvality může být celkové procento oplozenosti jiker daného výtěru nízké,
- aplikovatelné jen v případech, kdy máme k dispozici stejný počet pohlavích produktů od obou pohlaví.



Obr. 2. *Příklad osemeňování jiker dle schématu jednotlivých párů s využitím 20 samic a 20 samců (**N_e** = 40). Šedá pole symbolizují vzniklé rodiny.*

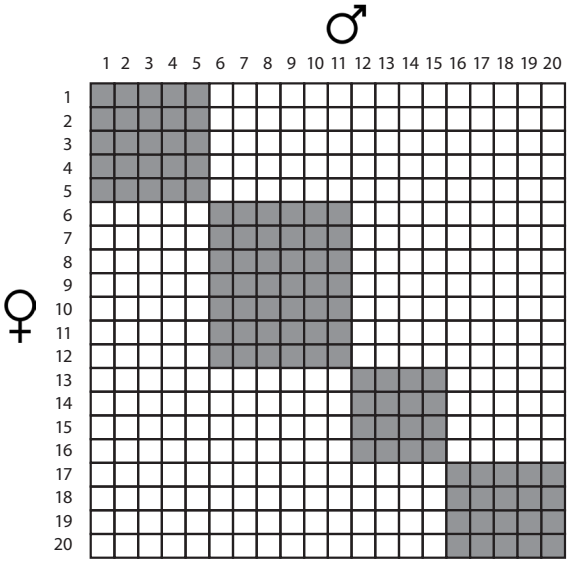
B) **Schéma částečně faktoriální (obr. 3)** – případ, kdy v rámci jedné výtěrové skupiny vytváříme podskupiny s jikrami dle jejich dostupnosti a ty pak osemeňujeme spermatem různých samců. Při použití tohoto schématu získáváme skupiny vlastních sourozenců i polosourozenců, ale někteří samci a samice nemají žádné společně příbuzné potomky. Zvolení tohoto schématu je možné v případech, kdy chceme získat násadový materiál pro užitkové chovy, za určitých okolností je tato metoda odůvodnitelná i pro ostatní případy provádění umělého výtěru ryb. V tomto případě je ale důležité, aby byl podíl jednotlivých skupin polosourozenců po obou rodičích co nejvyrovnanější.

Výhody:

- metoda není plně závislá na synchronizaci dostupnosti pohlavních produktů všech rodičů v jednom čase,
- zpravidla vyžaduje pouze velmi krátkodobé uchování pohlavních produktů jednoho z pohlaví – minimalizace zhoršení oplozeníschopnosti uchováváním,
- nezávislost na vyrovnanosti poměru pohlaví,
- organizačně a technicky je tato metoda nejjednodušší.

Nevýhody:

- plně nevyužijeme možnosti vzniku různých genotypů,
- částečná závislost na náhodnosti zvolených rodičovských párů okolnostmi nebo osobami provádějícími daný umělý výtěr.



Obr. 3. *Příklad osemeňování jiker dle částečně faktoriálního schématu s využitím 20 samic a 20 samců (**N_e** = 40). Šedá pole symbolizují vzniklé rodiny.*

C) **Schéma plně faktoriální (obr. 4)** – jde o případ, kdy v rámci jednoho daného výtěru všechny dostupné pohlavní produkty jednoho pohlaví osemeníme všemi dostupnými pohlavními produkty druhého pohlaví. Při použití tohoto schématu získáváme všechny možné kombinace skupin sourozenců a polosourozenců. Toto schéma by mělo být používáno pokud možno vždy, pouze v případě tvorby násadového materiálu pro užitkové chovy či za určitých specifických okolností je i u ostatních případů provádění umělého výtěru akceptovatelné použití jiných metod.

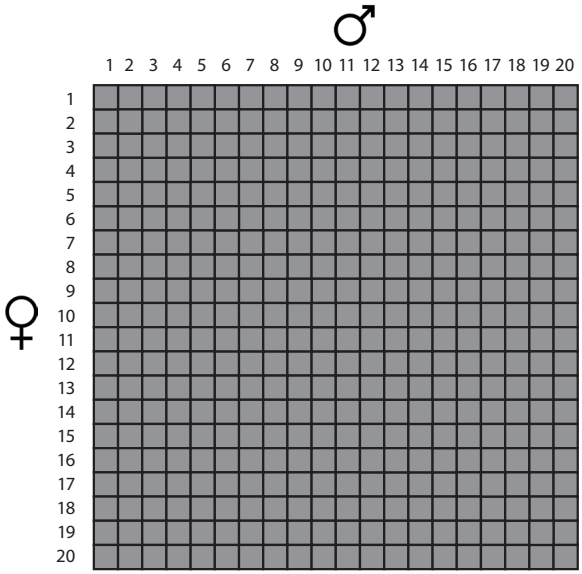
Výhody:

- získání maximálně možné genetické variability (maximální možný počet vzniklých genotypů),
- nezávislost na vyrovnanosti poměru pohlaví,
- eliminace náhodnosti volení rodičovských párů okolnostmi nebo osobami provádějícími daný umělý výtěr.

Nevýhody:

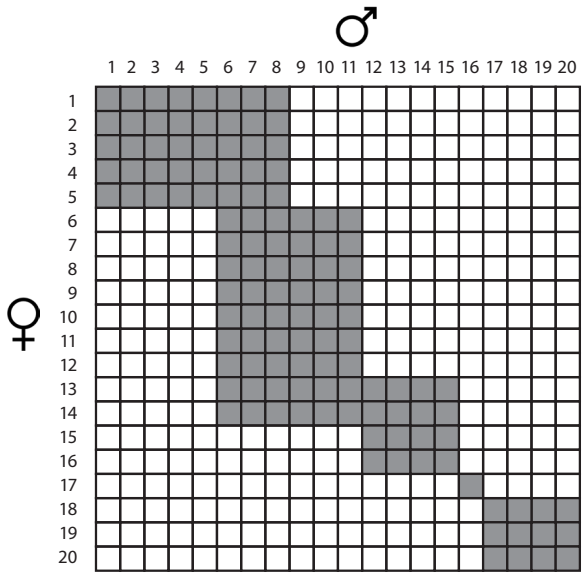
- metoda je závislá na synchronizaci dostupnosti pohlavních produktů všech rodičů v jednom čase či určitém časovém rozmezí,
- metoda vyžaduje krátkodobé uchování pohlavních produktů, po určitém čase může docházet ke zhoršení oplozeníshopnosti pohlavních produktů vedoucích ke snížení procenta oplozenosti jiker,

- použití metody je technicky a organizačně náročnější,
- v rámci dané chovné skupiny mohou mezi jedinci existovat různé příbuzenské vztahy.



Obr. 4. *Příklad osemeňování jiker dle plně faktoriálního schématu s využitím 20 samic a 20 samců (**N_e** = 40). Šedá pole symbolizují vzniklé rodiny.*

D) **Schéma kombinované (obr. 5)** – jde o nahodilý systém osemeňování, kdy se v rámci jednoho výtěru dle situace různě kombinuje více jednotlivých schémat. Toto schéma nejvíce odráží způsob provádění osemeňování jiker při umělé reprodukci na většině provozních rybích líhních. Jelikož jde o schéma nesystematické, kdy často ani nemáme přehled o počtu skutečně vzniklých skupin sourozenců a polosourozenců, nebo je poměr skupin sourozenců a polosourozenců mezi jednotlivými rodiči nevyvážený, není využití tohoto schématu doporučováno s výjimkou případů, kdy je umělý výtěr ryb prováděn za účelem produkce násadového materiálu pro užitkové chovy.



Obr. 5. *Příklad osemeňování jiker dle kombinovaného schématu s využitím 20 samic a 20 samců (**N**$_e$ = 40). Šedá pole symbolizují vzniklé rodiny.*

3.4. Způsoby osemeňování jiker

S ohledem na zjištěné skutečnosti je vedle způsobu tvorby rodin velmi důležitý i vlastní způsob osemeňování jiker pro zajištění maximální hodnoty N_e a rovněž zajištění rovnoměrného zastoupení (distribuce) genotypů (genotypových skupin neboli rodin). Způsob osemeňování jiker přitom nelze brát na lehkou váhu, neboť tato část umělého výtěru je s ohledem k zajištění maximální genetické variability potomstva a poměrnému zastoupení počtu potomků po jednotlivých rodičích jedním z klíčových okamžiků. Je potřeba si uvědomit, že v přírodě se vytírají na různých místech toku stovky až tisíce jedinců daného druhu (v rámci povodí to jsou pak deseti až statisíce), a i když se jedná zpravidla o párový výtěr či výtěr malých skupin o velikosti 3–5 ryb, je právě díky počtu těchto ryb zajištěna dostatečná genetická variabilita následných generací. Při umělém výtěru vytíráme zpravidla pouze několik desítek až stovek jedinců a potomstvo takto vzniklé je často vysazováno na rozsáhlá území. Rizika snížení genetické variability jsou proto vysoká. Z tohoto důvodu je nezbytné chovat se v průběhu umělého výtěru tak, abychom genetickou variabilitu následných populací udržovali na maximální možné úrovni. Rozlišujeme tři základní způsoby osemeňování (oplození) jiker:

- heterosperamtické oplození,

- semi-heterospermické oplození,
- individuální oplození.

3.4.1. Heterospermické oplození

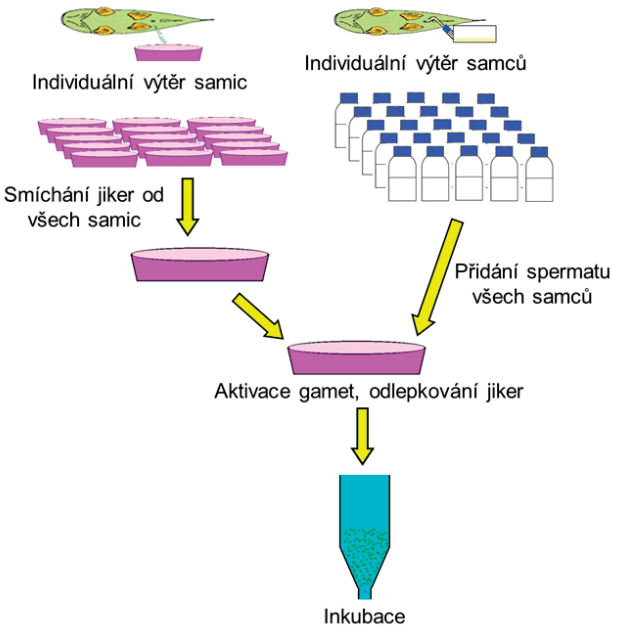
Heterospermické oplození spočívá v tom, že k vytřeným jikrám přidáme sperma všech dostupných samců (obr. 6). Máme-li tedy sperma např. od 25 samců, přidáme sperma všech samců do každé z nádob s jikrami. Nezáleží přitom na tom, zda máme jikry individuálně v jednotlivých nádobách, nebo zda jsme předtím smíchali jikry do jedné větší nádoby. Z důvodu jednoduchosti se zpravidla provádí druhý způsob, kdy všechny dostupné jikry před osemeněním spermatem smícháme do jedné nádoby a do této nádoby přidáme sperma od všech dostupných samců (obr. 7). V případech, kdy je množství vytřených jiker velké, rozdělujeme jikry do několika menších nádob nebo vytvoříme z původně individuálně vytřených jiker několik větších směsných vzorků smícháním jiker od několika samic dle množství vytřených jiker tak, abychom měli v každé nádobě přibližně stejné množství jiker. Podle způsobu míchání jiker se pak jedná o tvorbu rodin způsobem plně faktoriálním, částečně faktoriálním či kombinovaným.

Genetická variabilita vzniklého potomstva je různorodá a existuje mnoho faktorů, které ji mohou ovlivnit. Velmi rozdílný může být i podíl jednotlivých genotypů (resp. procentuální podíl zastoupení jednotlivých rodin), a to z těchto důvodů:

- nerovnoměrnost zastoupení množství jiker od jednotlivých samic,
- působení kompetice (soutěžení) spermií při oplozování jiker (různá kvalita a objem použitého spermatu).

Použitím stejného množství jiker (např. odvážením nebo odměřením odměrkou) a spermatu by bylo možné podíl zastoupení jednotlivých rodin částečně vyrovnat, ale s ohledem na kompetici spermií nikdy maximální genotypové variability nedosáhneme a musíme počítat s její ztrátou na úrovni 30–50 %. Na druhou stranu můžeme díky použití velkého množství spermatu počítat s velmi dobrou oplozeností jiker, neboť horší kvalita spermatu některých samců může být kompenzována lepší kvalitou spermatu jiných samců. Tato metoda je vhodná pouze pro tvorbu užitkových obsádek, kde není genetická variabilita tolik důležitá a zajímá nás spíše maximální množství získaného potomstva. Je ale nutné zdůraznit, že ani v tomto případě se heterospermické oplození nemusí vyplatit, neboť snížením počtu genotypů (genetické variability) může při změně podmínek chovu dojít k vyšší mortalitě ryb, a to za předpokladu, že vzniklé genotypy nejsou pro chov v těchto podmínkách vhodné. Jinak řečeno heterospermické oplození může způsobovat vyšší mezisezónní variabilitu přežití jednotlivých obsádek.

Obr. 6. *Ukázka heterospermického, popř. semi-heterospermického oplození jiker.*



Obr. 7. *Schéma heterospermického způsobu oplození při použití 15 samic a 25 samců.*

3.4.2. Semi-heterospermické oplození

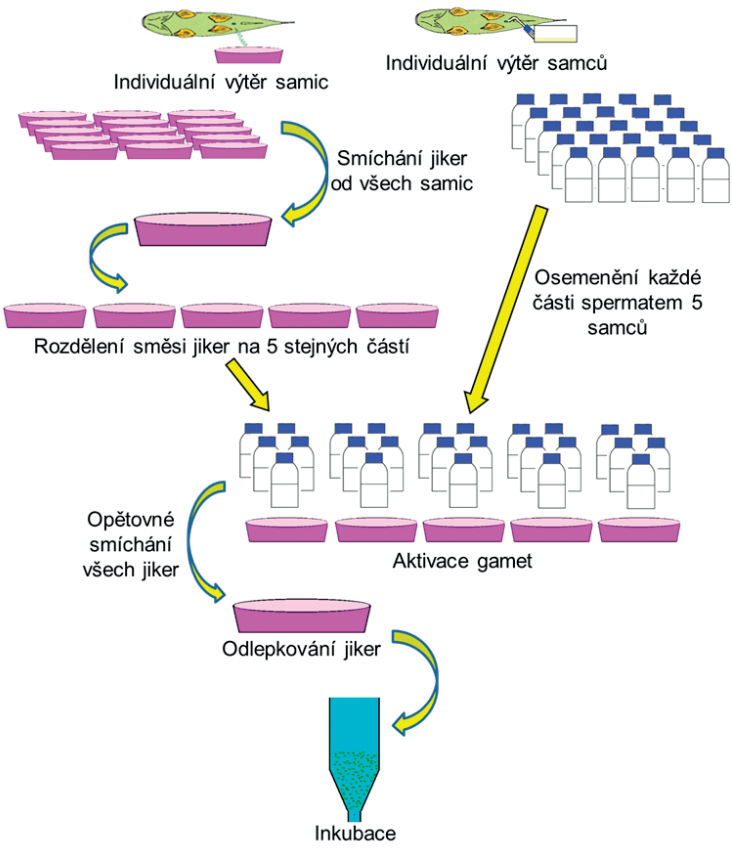
Semi-heterospermické oplození spočívá v tom, že vytřené jikry nejprve smícháme do jedné nádoby, obsah jemným mícháním stěrkou nebo jiným podobným předmětem zhomogenizujeme a poté jej rozdělíme na několik skupin. Každou skupinu pak osemeníme spermatem několika samců (obr. 6). Doporučuje se vytvořit počet skupin dělitelný počtem dávek spermatu (počtem samců), abychom každou z nich osemenili stejným počtem samců. Zároveň bychom neměli na každou z dávek použít více než 5 samců. Pokud tedy použijeme např. 25 samců, což je doporučené minimum při obnově plemenných ryb, rozdělíme směsný vzorek jiker na 5 skupin a každou skupinu osemeníme spermatem 5 samců. Tímto postupem snížíme následky kompetice spermií (neprobíhá kompetice mezi spermatem 25 samců, ale maximálně 5 samců) při oplozování jiker a s vyšší pravděpodobností zajistíme lepší genetickou variabilitu zakládaného potomstva. Zároveň je tato metoda technicky nenáročná a lze ji proto snadno provádět na běžných provozních líhních nebo i při umělém výtěru ryb přímo na trdlištích.

Výsledky experimentů naznačují, že za určitých okolností je tato metoda s ohledem na zajištění maximální genetické variability stejně efektivní jako metoda individuálního oplození. Z logiky věci vyplývá, že kritickým bodem tohoto způsobu oplození je zajištění rovnoměrnosti počtu potomků po jednotlivých rodičích, kdy může docházet ke změně četností jednotlivých alel v populaci. Navíc dosažené výsledky při použití tohoto způsobu oplození se mohou mezi jednotlivými výtěry značně lišit, a to především s ohledem na kvalitu a množství použitých gamet. Z těchto důvodů je nezbytné dbát na to, aby:

- množství použitých jiker od každé samice bylo vyrovnané – množství jiker je možné odměřit odvážením nebo odměřením objemu jakoukoliv vhodnou a suchou nádobou;
- kvalita spermatu použitých samců v rámci dané skupiny jiker byla podobná. Kvalita spermatu se dá posuzovat dle barvy a konzistence, blíže je hodnocení kvality čerstvého spermatu popsáno Linhartem a kol. (2011). Pokud máme například nějaké sperma kontaminováno krví či močí nebo je řídké, použijeme takové dávky v rámci jedné skupiny společně, než abychom každou z těchto dávek zařadili odděleně do skupiny se spermatem lepší kvality;
- množství spermatu od jednoho samce v rámci dané skupiny bylo vyrovnané – je optimální upravit objem spermatu každého samce tak, aby od každého z nich byl použit přibližně stejný počet spermií. To ale bohužel v běžném provozu není možné, proto postačí sjednotit sperma podobné kvality a od každého samce použít objemově stejné množství spermatu (odměření pipetou, stříkačkou, z kalibrované zkumavky, kádinky apod.).

Příklad postupu semi-heterospermického oplození 15 samic a 25 samců za účelem dosažení maximální genetické variability potomstva a rovnoměrnosti zastoupení potomstva po jednotlivých rodičích (obr. 8).

1. Standardním způsobem individuálně vytřeme samice i samce. Jikry sbíráme do vhodných suchých (nejlépe plastových) nádob. Sperma sbíráme do stříkaček, kádinek, zkumavek, nádob pro kultivaci buněčných kultur apod. a pokud to vyžaduje daný druh ryby, používáme imobilizační roztok dle běžných zvyklostí.
2. Zvážíme či objemově odměříme množství vytřených jiker od každé samice.
3. Do jedné velké suché nádoby (lavoru) odebereme od každé samice stejné množství jiker (odvážením nebo objemovým odměřením). Celkové množství jiker přizpůsobíme potřebě získaného potomstva nebo jednoduše použijme jako základ jikry od samice, jež jich dala nejméně, pokud tím nesnížíme počet jiker pod potřebnou hranici. Pokud by k této situaci došlo, použijeme od dané (daných) samice menší množství jiker než od ostatních. Snažíme se ale udělat rozdělení tak, aby množství jiker od jednotlivých samic bylo co nejvyrovnanější. Zajišťujeme si tím rovnoměrné zastoupení potomků od každé ze samic. Přebytky jiker můžeme použít k produkci užitkových obsádek, nebo je nevyužijeme, což je s ohledem na zachování maximální genetické variability potomstva (resp. poměrného zastoupení jednotlivých genotypů) výhodnější.
4. Po odměření jiker získanou směs jemným mícháním zhomogenizujeme. Dobré promíchání poznáme zpravidla tak, že ve směsi nevidíme různé odstíny barev jiker a celá směs dostane jednotnou barvu.
5. Získanou směs rovnoměrně rozdělíme do pěti dalších nádob, tzn. že v každé nádobě bude stejné množství jiker.
6. Do každé z nádob přidáme, co do kvality, jednotné množství spermatu od pěti různých samců (5 nádob * sperma od 5 samců do každé z nádob = 25 samců). Množství spermatu závisí na druhu ryby, ale zpravidla nedáváme více než 0,5 ml spermatu (či směsi spermatu a imobilizačního roztoku) od každého samce na 100 g jiker.
7. Po přidání spermatu směs opět opatrně promícháme a poté gamety aktivujeme vodou dle zaběhnutých postupů nebo doporučených metodik. V případech, kdy se voda přidává před osemeněním spermatem (např. u jeseterů), přidáme sperma až po přidání vody.
8. Podle druhu ryby po 1-5 minutách od aktivace gamet vodou všechny nádoby seskupíme opět do jedné větší nádoby a můžeme zahájit odlepkování jiker, je-li to třeba. Je možné rovněž zahájit odlepkování odděleně v každé z nádob a seskupení všech nádob do jedné větší provést až později, ale před nasazením jiker do inkubačních aparátů, abychom měli v případě potřeby většího počtu aparátů na každém z nich směs všech možných kombinací jednotlivých rodin.



Obr. 8. *Schéma semi-heterospermického způsobu oplození při použití 15 samic a 25 samců.*

3.4.3. Individuální oplození

O individuálním oplození hovoříme, pokud jikry (směs jiker) osemeňujeme spermatem každého samce odděleně. Individuální oplození lze použít pro všechny způsoby tvorby rodin (viz kapitola 3.3.). Jikry (směs jiker) v tomto případě rozdělujeme rovnoměrně na tolik dílů, kolik samců (nebo dávek spermatu) máme k dispozici. Velkou výhodou je, že při tomto způsobu oplození eliminujeme kompetici spermií, která existuje u heterospermického či semi-heterospermického způsobu oplození. Tento způsob oplození je tedy – s ohledem na zajištění maximální hodnoty N_e, maximální genetické variability zakládaného potomstva a poměrného zastoupení jednotlivých rodin – tím

nejvhodnějším. Individuální oplození je proto doporučováno vždy, pokud je účelem umělého výtěru:

- obnova generačních hejn ryb (nezáleží přitom na tom, zda generační ryby využíváme pro plemenitbu, v rámci udržování genetických zdrojů, nebo pro produkci násad určených k vysazování do volných vod),
- produkce násad určených pro zarybňování volných vod (nezáleží přitom na tom, zda jde pouze o podporu stávajících populací, nebo o reintrodukci ryb po jejich vymizení).

Po osemenění a aktivaci gamet je možné všechny alikvoty opět smíchat do jedné větší nádoby stejně jako u semi-heterospermického způsobu oplození. Nevýhodou tohoto způsobu je větší náročnost na obslužný personál, a to kvůli většímu počtu misek s jikrami, které je potřeba samostatně osemenit, aktivovat, míchat apod. Vyšší potřebu obslužného personálu lze snížit použitím automatického třepacího (míchacího) pultu s nástavcem, který lze zakoupit společně s míchacím pultem nebo si jej zhotovíme dle potřeb s ohledem na druh vytíraných ryb (obr. 9). Pořízení třepacího pultu ale vyžaduje jistou finanční investici (35 000–60 000 Kč) a zajištění přívodu elektrického proudu. Při individuálním oplození je možno za určitých okolností, zejména v případech horší kvality spermatu, očekávat i horší oplozenost jiker. Všechny nevýhody jsou ale vzhledem k účelu provádění umělého výtěru mnohonásobně převýšeny výhodami tohoto způsobu oplození.

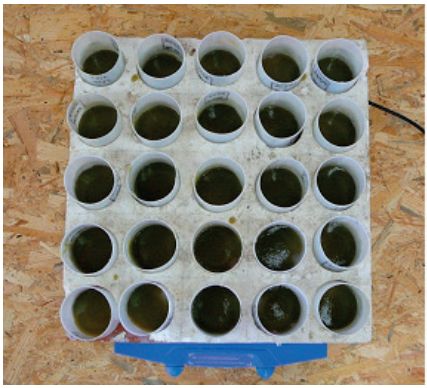
Obr. 9. *Ukázka míchacího (třepacího) pultu s různými nástavci na umístění nádob s jikrami (vlevo – dodávaný prodejcem přístroje; vpravo – zhotovený vlastními silami).*

Příklad postupu individuálního oplození 15 samic a 25 samců za účelem dosažení maximální genetické variability potomstva a rovnoměrnosti zastoupení potomstva po jednotlivých rodičích (obr. 10).

1. Standardním způsobem individuálně vytřeme samice i samce. Jikry sbíráme do vhodných suchých (nejlépe plastových) nádob. Sperma sbíráme do stříkaček, kádinek, zkumavek, nádob pro kultivaci buněčných kultur apod. a po-

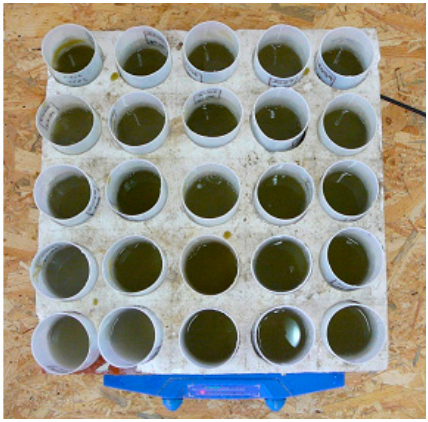
kud do vyžaduje daný druh ryby, používáme imobilizační roztok dle běžných zvyklostí.

2. Zvážíme či objemově odměříme množství vytřených jiker od každé samice.
3. Do jedné velké suché nádoby (lavoru) odebereme od každé samice stejné množství jiker (odvážením nebo objemovým odměřením).
4. Celkové množství jiker přizpůsobíme potřebě získaného potomstva nebo jednoduše použijme jako základ jikry od samice, jež jich dala nejméně, nesníží-me-li tím počet jiker pod potřebnou hranici. Pokud by k této situaci došlo, použijeme od dané (daných) samice menší množství jiker než od ostatních. Snažíme se ale rozdělení udělat tak, aby množství jiker od jednotlivých samic byla co nejvyrovnanější. Zajišťujeme si tím rovnoměrné zastoupení potomků od každé ze samic. Přebytky jiker můžeme použít k produkci užitkových obsádek nebo je nevyužijeme, což je s ohledem na zachování maximální genetické variability potomstva (resp. poměrného zastoupení jednotlivých genotypů) výhodnější.
5. Po odměření jiker získanou směs jemným mícháním zhomogenizujeme. Dobré promíchání poznáme zpravidla tak, že ve směsi nevidíme různé odstíny barev jiker a celá směs dostane jednotnou barvu.
6. Pro fázi osemeňování a aktivace gamet se doporučuje využít míchací pult. Na nástavec míchacího pultu (vlastnoručně zhotovený nebo zakoupený) umístíme 25 nádob, do nichž rovnoměrně rozdělíme směs jiker (obr. 11). Jikry odměřujeme odvážením nebo objemově s využitím různých lžic a naběraček (obr. 12). Podle druhu ryby umisťujeme jikry do různých typů misek či nádob. Nádoby je možné zhotovit vlastnoručně např. z PET nebo PP lahví různého objemu odstřižením horní části s hrdlem.



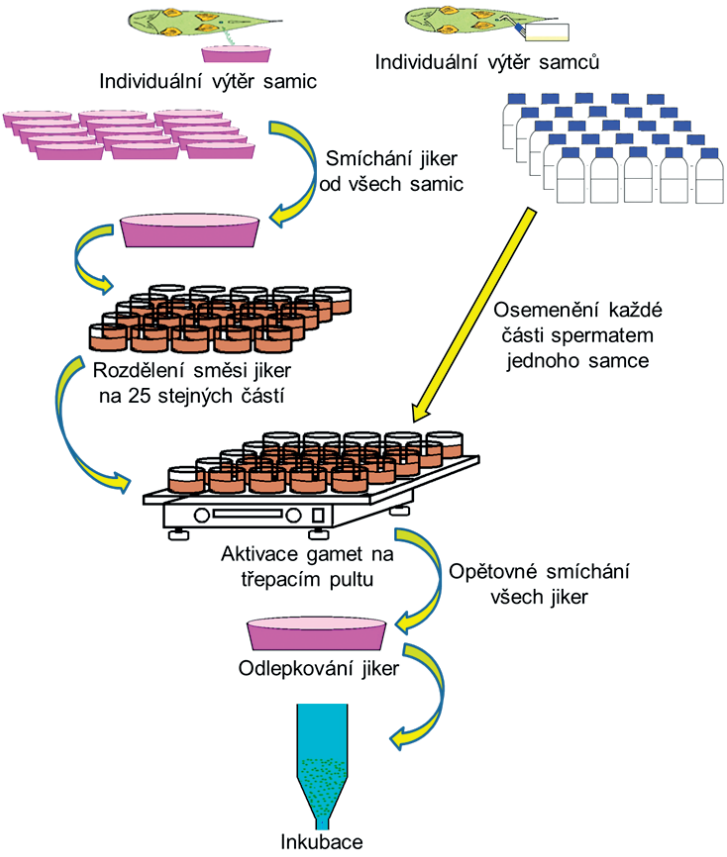
Obr. 11 *(vlevo). Rozdělení směsi jiker od 15 samic na 25 částí a jejich umístění na míchacím pultu.*
Obr. 12 *(vpravo). Ukázka naběračeka a lžic pro rovnoměrné rozdělení směsi jiker objemovou metodou.*

7. Do každé z nádob s jikrami přidáme sperma jednoho samce (na každou dávku jiker dáváme sperma jiného samce) (obr. 13). Množství spermatu závisí na druhu ryby, ale ve většině případů se doporučuje přidat 1–2 ml spermatu (nebo směsi spermatu a imobilizačního roztoku) na 100 g jiker. Teoreticky je možné aplikovat sperma na jikry přímo od samců. Tento postup se ale nedoporučuje, neboť může dojít ke kontaminaci více nádob spermatem jednoho samce či předčasné aktivaci části gamet vodou odkapávající z těla ryby.
8. Po přidání spermatu směs jiker a spermatu promícháme spuštěním funkce míchání na míchacím pultu. V závislosti na množství jiker v nádobě a tvaru nádoby volíme rychlost míchání, a to zpravidla v rozmezí 100–250 otáček za minutu (rpm; rychlost míchání je možno nastavit na ovládacím pultu přístroje).
9. Po promíchání jiker a spermatu aktivujeme gamety přidáním vody (aktivačního roztoku nebo i v některých případech rovnou odlepkovacího roztoku), jak jsem zvyklí při umělém výtěru toho kterého druhu ryby. Množství přidávané vody by objemově mělo odpovídat 0,5–1násobku množství jiker (obr. 14).
10. Stopujeme čas od aktivace první a poslední nádoby a směs gamet s vodou mícháme alespoň tak dlouho, aby poslední aktivovaná nádoba s gametami byla míchána 1 min. a první nádoba nebyla míchána déle, než kdy je nutné přikročit k odlepkování jiker (nepoužíváme-li odlepkovací roztok přímo k aktivaci gamet). Pokud by proces aktivace gamet trval déle než je nutné pro včasné zahájení odlepkování jiker, bude nezbytné oplozování rozdělit na více kroků nebo, je-li to možné, k aktivaci jiker používat přímo odlepkovací roztok.



Obr. 13 *(vlevo). Osemenění jiker spermatem při individuálním způsobu oplození (sperma každého samce do jedné nádoby).*

Obr. 14 *(vpravo). Směs jiker a spermatu po aktivaci gamet vodou a promíchání s využitím třepacího pultu.*



Obr. 10. *Schéma individuálního způsobu oplození při použití 15 samic a 25 samců.*

11. Po 1–5 minutách od aktivace gamet nebo před zahájením odlepkováním seskupíme všechny alikvoty (nádoby s oplozenými jikerami) zpět do jedné nádoby a dále postupujeme jako při běžném umělém výtěru.
12. Na aparáty nasazujeme již homogenní směs všech vzniklých rodin.

4. ZÁVĚREČNÉ SHRNUTÍ

Vedle počtu použitých rodičů jsou způsob tvorby rodin a osemeňování gamet velmi důležitými faktory pro zajištění maximální skutečné efektivní velikosti populace, maxi-

Tab. 4. *Přehled způsobů osemeňování jiker, výhody, nevýhody a možnosti využití jednotlivých metod.*

	Typ oplození jiker		
	Heterospermické	**Semi-heterospermické**	**Individuální**
Výhody	• Technicky a časově nenáročné • Může zlepšit procento oplozenosti jiker	• Technicky a časově relativně nenáročné • Může zlepšit procento oplozenosti jiker • Snižuje možnost kompetice spermií při oplozování jiker • Za určitých okolností může mít stejný efekt jako individuální oplození	• Eliminuje kompetici spermií při oplozování, čímž umožňuje: » zajistit rovnoměrný podíl potomstva v rámci jednotlivých rodin » předání genů od všech samců do následující generace » zajistit maximální genetickou variabilitu a hodnotu N_e » minimalizovat inbriding
Nevýhody	• Velká kompetice spermií při oplozování jiker vedoucí k: » diverzifikaci podílu genetické informace přenesené jednotlivými samci do nové generace » snížení počtu samců, kteří se skutečně zúčastní na předání genů » snížení skutečné N_e » zvýšení koeficientu inbridingu	• Existující kompetice spermií při oplozování v rámci jednotlivých skupin může vést k: » diverzifikaci podílu genetické informace přenesené jednotlivými samci do nové generace » snížení počtu samců, kteří se skutečně zúčastní na předání genů • Dosažené výsledky jsou velmi citlivé na kvalitu a rozdíly v kvalitě jednotlivých pohlavních produktů	• Časově a technicky náročnější metoda • Vyžaduje krátko až středně dobé uchování jiker a spermatu, což může zhoršit jejich kvalitu • Celková oplozenost jiker může být nižší než při použití předchozích typů oplození
Využití	• Pouze produkce obsádek pro užitkové chovy	• Produkce obsádek pro užitkové chovy • Za určitých okolností produkce násad pro zarybňování volných vod, obnovu generačních ryb a zakládání testů užitkovosti – *nedoporučuje se*	• Všestranné využití, zejména pro produkci násad pro zarybňování volných vod, obnovu generačních ryb a zakládání testů užitkovosti – *nejvhodnější metoda*

mální genetické variability a rovnoměrnosti zastoupení této variability v rámci jednotlivých rodin uvnitř dané chovné skupiny. Ze zjištěných výsledků výzkumu vyplynulo, že kompetice spermií při používání heterospermického oplození je zásadním faktorem ovlivňujícím konečnou genetickou variabilitu a že se díky tomuto fenoménu nemusí genetická informace některých samců do následujících generací vůbec přenést. Rozlišujeme tři základní způsoby osemeňování jiker. Výhody, nevýhody a možnosti využití jednotlivých metod jsou shrnuty v tab. 4. I když je za určitých okolností využití semi-heterospermického oplození dostatečným opatřením pro řešení tohoto problému, je jednoznačně doporučováno využívat pro obnovu stavu generačních ryb a produkci násad určených pro zarybňování volných vod (u původních druhů ryb) nejen plné faktoriální křížení, ale i individuální způsob oplození jiker.

III. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Metodika a zejména postupy a doporučení v ní popsané vycházejí z nejnovějších poznatků z oblasti kompetice spermií při heterospermickém oplození jiker u kapra obecného. Závěry z výsledků vlastního výzkumu i z informací z odborné literatury byly promítnuty do návrhu způsobu tvorby rodin a osemeňování jiker při umělém výtěru ryb, a to s ohledem na účel provádění umělého výtěru. Výsledky výzkumu vycházejí zejména z informací získaných při studiu genetické variability populací, plemen a linií kapra obecného chovaných na území České republiky. Kromě jednotlivých populací byly srovnávány i rozdíly v genetické variabilitě plemen chovaných na různých lokalitách či v různých časových obdobích a zjištěný výsledek byl porovnáván se způsobem obnovy stavů generačních ryb. Vedle těchto informací byly získány i informace o vývoji genetické variability dvou plemen kapra obecného, u nichž bylo potomstvo založeno dvěma různými způsoby oplození (osemeňování jiker). Vedle vlastní metodické části popisující jednotlivé způsoby osemeňování jiker je v úvodu metodiky shrnuta i problematika genetiky populací a významu genofondu, neboť hlubší pochopení jednotlivých zákonitostí pomůže uživatelům metodiky pochopit její význam. Metodika je tedy komplexním dílem vycházejícím z informací získaných s využitím metod molekulární biologie a genetiky, a z tohoto pohledu je, vzhledem ke svému účelu, dílem originálním.

IV. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Účelem metodiky je pojmenovat kritické body při umělém výtěru ryb s ohledem na zachování skutečné efektivní velikosti populace a zajištění maximální možné genetické variability zakládaného potomstva a popsat nejvhodnější způsoby osemeňování

jiker vzhledem k účelu provádění umělého výtěru. Metodika je svým zaměřením nejvýznamnější pro instituce, organizace a podniky, které:

- udržují a obnovují generační hejna ryb za účelem plemenitby či udržování genetických zdrojů;
- využívají umělý výtěr ryb pro produkci násad určených k vysazování do volných vod.

Metodika je tedy využitelná pro celou řadu rybářských podniků, chovatelů konzumních i okrasných ryb a organizací rybářského svazu. Systém individuálního oplozování, který je nejvhodnějším způsobem právě pro výše zmiňované případy, je standardně využíván na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích, Fakultě rybářství a ochrany vod (FROV JU) a účelem metodiky je rozšířit tento způsob osemeňování jiker všude tam, kde je to vzhledem k účelu provádění umělého výtěru nezbytné. Způsob individuálního oplozování je rovněž za asistence FROV JU využíván v podnicích při zakládání testů užitkovosti kapra obecného a lína obecného, na jejichž provádění získávají subjekty národní dotace z Ministerstva zemědělství (dotační titul 2.A.e.1.a).

Metodika byla uplatněna v rámci řešení společného projektu na podniku Rybníkářství Pohořelice a.s.

V. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Metoda individuálního oplození může snížit rychlost inbrídingu v průměru o 30 % (kapitola 2.2.). Předpokládejme, že počet ryb používaných k reprodukci je na úrovni 15 samic a 25 samců. Použitím vhodné metody oplození zpomalíme tedy inbríding o 0,6 % za generaci. V kapitole 2.4. bylo rovněž zmíněno, že zvýšení koeficientu inbrídingu o 10 % způsobuje snížení růstu o 0,8–3,3 % (s nejčastěji pozorovanou hodnotou na úrovni 2 %) a snížení plodnosti a přežití až o 10 %. Pokud zohledníme tyto údaje společně s průměrnou relativní plodností ryb, kumulativním přežitím ryb od stádia váčkového plůdku do tržní velikosti, průměrnou hmotností ryby v tržní velikosti a tržní cenu ryb, zjistíme, že u kapra obecného je ekonomický efekt při použití individuálního oplození cca 0,2 Kč a u pstruha duhového cca 0,8 Kč na 1 kg tržních ryb za jednu generaci. Tento efekt se v následujících generacích o zmiňovanou částku navyšuje, takže za 10 generací (50 let u kapra obecného a 30 let u pstruha duhového) může ekonomický rozdíl činit již 2 Kč u kapra obecného a 8 Kč u pstruha duhového na 1 kg tržních ryb. Při produkci kapra obecného na úrovni 1 000 t (větší rybářské podniky) je očekáván ekonomický efekt po 10 generacích na úrovni 2 mil. Kč, u pstruha duhového při produkci 50 t (větší výrobci) je pak očekáván přínos kolem 400 000 Kč.

Z výše uvedeného je patrné, že snižování inbrídingu používáním individuálního oplození při umělém výtěru ryb se vyplatí zejména s ohledem na středně- a dlouho-

dobý horizont, a to i přes zvýšenou časovou a technickou náročnost tohoto postupu a potřebnou investici ve výši 35 000–60 000 Kč.

VI. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Fessehaye, Y., Bovenhuis, H., Rezk, M.A., Crooijmans, R., van Arendonk, J.A.M., Komen, H., 2009. Effects of relatedness and inbreeding on reproductive success of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 294 (3–4): 180–186.

Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Šlechta, V., Linhart, O., 2008. Genetika a šlechtění ryb. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, Vodňany, 232 s.

Flajšhans, M., Hulák, M., Kašpar, V., Rodina, M., Kocour, M., Gela, D., 2009. Metodika uchování genetických zdrojů ryb v živé genové bance. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 91, 23 s.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1981. Conservation of the genetic resources of fish: Problems and recommendations. Report of the Expert Consultation on the Genetic Resources of Fish, Rome, 9–13 June 1980, FAO Fisheries Technical Paper 217, 43 pp.

Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (*Acipenser*). Edice Metodik VÚRH JU, Vodňany, č. 78, 24 s.

Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Edice Metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 99, 43 s.

Hamáčková, J., Kouřil, J., Adámek, Z., 2008a. Řízená reprodukce a odchov plůdku jelce jesena (*Leuciscus idus*). Edice Metodik (technologická řada), VÚRH JU, Vodňany, č. 84, 12 s.

Hamáčková, J., Kozák, P., Lepič, P., Kouřil, J., 2008b. Umělá reprodukce a odchov násadového materiálu podoustve říční. Edice Metodik (technologická řada), VÚRH JU, Vodňany, č. 82, 14 s.

Hochman, L., Peňáz, M., 1989. Výtěr a odchov plůdku ostroretky stěhovavé. Edice Metodik, VÚRH, Vodňany, č. 34, 15 s.

Kašpar, V., Kohlmann, K., Vandeputte, M., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Alavi, S.M.H., Hulák, M., Linhart, O., 2007. Equalization of sperm concentrations in a pool of sperm does not prevent large variance in males contribution in common carp progeny. Aquaculture 272 (S1): S204–S209.

Kašpar, V., Vandeputte, M., Kohlmann, K., Hulák, M., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Linhart, O., 2008. A proposal and case study towards a conceptual approach of validating sperm competition in common carp (*Cyprinus carpio* L.), with practical implications for hatchery procedures. Journal of Applied Ichthyology 24: 406–409.

Kouřil, J., Podhorec, P., 2011. Umělý výtěr lína obecného. Edice Metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 113, 26 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Lepičová, A., Adámek, Z., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., 2008. Řízená reprodukce a odchov plůdku perlína ostrobřichého a hrouzka obecného. Edice Metodik (technologická řada), VÚRH JU, Vodňany, č. 69, 11 s.

Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2001. Umělá reprodukce sumce velkého (***Silurus glanis*** L.) s použitím enzymu k odlepkování jiker. Edice Metodik VÚRH JU, Vodňany, č. 67, 15 s.

Linhart, O., Rodina, M., Boryshpolets, S., 2011. Hodnocení čerstvého spermatu ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 114, 26 s.

Lusk, S., Hanel, L., Lusková, V., 2004. Red List of the ichthyofauna of the Czech Republic: Development and present status. Folia Zoologica 53 (2): 215–226.

Moss, D.R., Arce, S.M., Otoshi, C.A., Doyle, R.W., Moss, S.M., 2007. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp ***Penaeus (Litopenaeus) vannamei***. Aquaculture 272 (Suppl. 1): S30–S37.

Musil, J., Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), VÚRH JU, Vodňany, 16 s.

Neira, R., Diaz, N.F., Gall, G.A.E., Gallardo, J.A., Lhorente, J.P., Manterola, R., 2006. Genetic improvement in Coho salmon (***Oncorhynchus kisutch***) I: Selection response and inbreeding depression on harvest weight. Aquaculture 257 (1–4): 9–17.

Pante, M.J.R., Gjerde, B., McMillan, I., 2001. Inbreeding levels in selected populations of rainbow trout, ***Oncorhynchus mykiss***. Aquaculture 192 (2–4): 213–224.

Pokorný, J., Adámek, Z., 1997. Umělý výtěr mníka jednovousého a odchov jeho plůdku. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, 16 s.

Policar, T., Drozd, B., Kouřil, J., Kozák, P., Hamáčková, J., Alavi, S.M.H., Vavrečka, A., 2009. Současný stav, umělá reprodukce a odchov násadového materiálu parmy obecné (***Barbus barbus*** L.). FROV JU Vodňany, Edice Metodik (technologická řada), č. 95, 39 s.

Policar, T., Alavi, S.M.H., Stejskal, V., Křišťan, J., Kouřil, J., 2011. Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (***Perca fluviatilis***) používaný k masové produkci embryí. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 117, 34 s.

Randák, T., Turek, J., Kolářová, J. Kocour, M., Hanák, R., Velíšek, J., Žlábek, V., 2009. Technologie chovu pstruha obecného v kontrolovaných podmínkách za účelem produkce násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 96, 19 s.

Randák, T., Turek, J., Kolářová, J. Kocour, M., Kouřil, J., Hanák, R., Velíšek, J., Žlábek, V., 2009. Technologie chovu generačních lipanů podhorních za účelem udržitelné produkce kvalitního násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 97, 22 s.

Relichová, J., 2009. Genetika populací. Masarykova univerzita. Brno, 188 s.

Su, G.S., Liljedahl, L.E., Gall, G.A.E., 1996. Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (***Oncorhynchus mykiss***). Aquaculture 142 (3–4): 139–148.

Tave, D., 1986. Genetics for fish hatchery managers. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, USA, 299 pp.

Withler, R.E., 1988. Genetic consequences of fertilizing chinook salmon (*Oncorhynchus-tshawytscha*) eggs with pooled milt. Aquaculture 68 (1): 15–25.

Withler, R.E., Beacham, T.D., 1984. Genetic consequences of the simultaneous or sequential addition of semen from multiple males during hatchery spawning of chinook salmon (*Oncorhynchus-tshawytscha*). Aquaculture 126 (1–2): 11–23.

VII. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Šlechta, V., Linhart, O., 2008. Genetika a šlechtění ryb. VÚRH JU, Vodňany, 232 s. (dedikace: GA206/05/2159, GA523/08/0824, GA524/03/0178, GA524/07/0188, GV523/97/S056, LC06073, AV0Z50450515, MSM6007665809)

Flajšhans, M., Hulák, M., Kašpar, V., Rodina, M., Kocour, M., Gela, D., 2009. Metodika uchování genetických zdrojů ryb v živé genové bance. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 91, 23 s. (dedikace: QH92308, MSM6007665809)

Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Edice Metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 99, 43 s. (dedikace: QH82118, MSM6007665809)

Kašpar, V., Kohlmann, K., Vandeputte, M., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Alavi, S.M.H., Hulák, M., Linhart, O., 2007. Equalization of sperm concentrations in a pool of sperm does not prevent large variance in males contribution in common carp progeny. Aquaculture 272 (S1): S204–S209. (dedikace: GA524/06/0817, MSM6007665809)

Kašpar, V., Vandeputte, M., Kohlmann, K., Hulák, M., Rodina, M., Gela, D., Kocour, M., Linhart, O., 2008. A proposal and case study towards a conceptual approach of validating sperm competition in common carp (*Cyprinus carpio* L.), with practical implications for hatchery procedures. Journal of Applied Ichthyology 24: 406–409. (dedikace: GA524/06/0817, QH82118, MSM6007665809)

Randák, T., Turek, J., Kolářová, J. Kocour, M., Hanák, R., Velíšek, J., Žlábek, V., 2009. Technologie chovu pstruha obecného v kontrolovaných podmínkách za účelem produkce násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 96, 19 s. (dedikace: QH71305, QH82118, MSM6007665809)

Randák, T., Turek, J., Kolářová, J. Kocour, M., Kouřil, J., Hanák, R., Velíšek, J., Žlábek, V., 2009. Technologie chovu generačních lipanů podhorních za účelem udržitelné produkce kvalitního násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 97, 22 s. (dedikace: QH71305, QH82118, MSM6007665809)

EXTERNÍ ODBORNÝ OPONENT

prof. Ing. Josef Dvořák, CSc., dr.h.c.

Lamgen s.r.o.

Karlovo nám. 26/20, 674 01 Třebíč

INTERNÍ ODBORNÝ OPONENT

Ing. Marek Rodina, Ph.D.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

OPONENT ZA STÁTNÍ SPRÁVU

Ing. Vladimír Gall

MZe Praha

Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství (16230)

Těšnov 17, 117 05 Praha 1

ADRESA AUTORŮ:

Ing. Martin Kocour, Ph.D., 40 % (kocour@frov.jcu.cz),

Ing. Vojtěch Kašpar, Ph.D., 20 % (vkaspar@frov.jcu.cz),

Ing. David Gela, Ph.D., 20 % (gela@frov.jcu.cz)

doc. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr., 20 % (flajsh@frov.jcu.cz),

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

OSVĚDČENÍ O UPLATNĚNÉ CERTIFIKOVANÉ METODICE

Č. 133/2012 16230/N_{met} – certifikovaná metodika

Vydalo: Ministerstvo zemědělství, úsek lesního hospodářství, Sekce lesního hospodářství, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství, Těšnov 17, 117 05 Praha 1.

V edici Metodik (Technologická řada)

vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,

Redakce: Ing. Blanka Vykusová, CSc., Zuzana Dvořáková

Náklad: 200 ks, vytištěno v roce 2012, 1. vydání

Grafický design a technická realizace: iDigitisk s. r. o.

FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

VYDÁNÍ PUBLIKACE BYLO USKUTEČNĚNO
ZA FINANČNÍ PODPORY PROJEKTU:
INOVACE PREZENČNÍHO STUDIA BAKALÁŘSKÉHO STUDIJNÍHO OBORU RYBÁŘSTVÍ
(CZ.1.07/2.2.00/15.0076)

ISBN 978-80-87437-54-4