

Strategické obecné body reprodukce

- **Pro dosažení kvalitní reprodukce a tím dostatečného množství životaschopného plůdku je nutné zvládnutí základních částí strategie reprodukce.**

Strategické obecné body reprodukce:

- 1) **Množství ryb ve výtěru, evidence ryb a výtěru.**
- 2) **Znalost výživy generačních ryb vhodného období zařazení jikernaček do výtěru.**
- 3) **Anesteze a hormonální stimulace k výtěru.**
- 4) **Výtěr spermií a jiker (immobilizační roztoky).**
- 5) **Krátkodobé uchování spermií a jiker před osemeněním.**
- 6) **Inseminace jiker s kvantifikací spermií na jikru.**
- 7) **Aktivace jiker (aktivační roztoky, proporce jiker a aktivačních roztoků).**
- 8) **Eliminace lepivosti jiker.**
- 9) **Inkubace jiker a jejich ošetřování.**
- 10) **Odchov váčkového plůdku do přechodu na vnější výživu.**
- 11) **Odchov plůdku do stáří „rozkrmenného plůdku“.**

Množství zařazovaných ryb a jejich evidence

- V případě velkých rotací generačních ryb s kombinací převozů ryb v kombinaci s přirozeným způsobem výtěru atd. není nutné dodržovat kritéria počtu vytíraných ryb.
- V případě uchování určitých populací s jejich kvantitativně genetickými znaky, kdy umělá reprodukce v líhni daného plemene, druhu či populace je jediná pro zachování druhu či populace je nutné zachovávat princip početnosti vytíraných ryb. Počet vytíraných ryb by neměl klesnout pod 50 ks, přičemž zastoupení jikernaček a mlíčáků má být na úrovni 1:1, tzn. musí být dodržována **tzv. efektivní velikost populace (N_e)**.
- Efektivní velikost populace na úrovni $N_e = 50$ (při poměru 25:25 se jedná o 50 ks ryb) zabezpečí za 10 generací nárůst imbrední (příbuzenské) deprese pouze na úroveň 10 %.
- **$N_e = 4(N_f \cdot N_m) / N_f + N_m$** – vzorec (při použití 25 females a 25 males – $N_e = 50$; při použití 25 females a 1 males – $N_e = 3,2$). Při $N_e = 3,2$ se imbrední deprese rovná za 1 generaci 16 %. Tudíž za 4 generace se musíme provést u generačního hejna jeho obnovení z jiného chovu.

Značení ryb a evidence

- Pro dobrou evidenci je nutné ryby označit či značkovat.
- Příklad - Značení ryb, používá se především kryogenní metoda u kapra lysého a lina s vymražením značek v kapalném dusíku, značení není trvalé zhruba na 2-3 roky, výhoda není nutná další technika.
- Příklad- Zavádění mikročipů značek s kódem 10 nebo 15 místným do svaloviny ryb s automatickým propojením přes scanner s počítačovým databázový programem. Značkování je trvalého charakteru. Se snižující se cenou mikročipů tento typ značkování již převládá.

Příklad výtěrového listu

Záznam o výtěru.....

List č.

Datum zahájení přípravy:

Datum injikace:

Datum výtěru:

Číslo výtěru-

[illegible]

Znalost výživy generačních ryb a vhodného období zařazení jikernaček do výtěru

Pro kvalitní dozrání pohlavních produktů generačních ryb a jejich přípravě k výtěru je nutné dodržování základních zootechnických předpokladů chovu specifického druhu ryb s dostatečným množstvím komplexních krmiv s vysokým obsahem proteinů.

Vhodné období zařazení k výtěru určíme:

- Podle období fotoperiody a teploty.
- Podle velikosti břišní partie, stáří jikernaček a celkové kondice.
- Podle výtěrového chování
- Podle velikosti ovocytů a polohy jádra.

Anesteze

- Ryby před každou manipulací je nutné anestetizovat.
- Používá se 2-phenoxyethanol nebo hřebíčkový olej u kaprovitých ryb v dávce 1 ml na 100 l vody.
- Dávka je závislá na druhu, velikosti ryb a teplotě vody.
- Fáze anesteze je docíleno tehdy, kdy nedochází k pohybu žaberního víčka.

Příklad - u mlíčáků sumce není možné vytrít mlíčáky bez anesteze. Stav „naprosté relaxace, či spánku“ je nutný k uvolnění moči a později spermatu.



Stimulace k výtěru

- U některých druhů ryb postačí vhodná fotoperioda, teplota, výtěrový substrát a přítomnost druhého pohlaví k výtěru (příklad štika, lososovité ryb, candát, okoun). U těchto druhů stačí pravidelnou kontrolou ověřovat stav jikernaček k výtěru.
- U některých druhů ryb (kapr, lín, sumec atd.) je nezbytné pro docílení výtěru jikernaček použít hormonální stimulace v určitých definovaných podmínkách prostředí s přesnou dávkou stimulující látky na kg hmotnosti jikernačky. Obecně u hypofýzy postačí k stimulaci 2-5 mg kapří hypofýzy a u GnRH_a/LHRH_a to jsou mikrogramy na kg hmotnosti jikernačky. U mlíčáků se většinou používá k stimulaci pouze kapří hypofýza.
- Po hormonální stimulaci je nutné nezbytné „latentní“ období pro dozrání ovocytů (defakto znovu nastartování meiozy), které je nutné přesně zaznamenávat. Latentní období se počítá v tzv. hodinových stupních tzn. (teplota v daném období x čas v hodinách od injekce do výtěru). Příklad sumec velký, nezbytné latentní období je v průměru 500 hodinových stupňů (tzn. 22 °C x 23 h = 506 °h). V době kdy se předpokládá výtěr je nutné jikernačky kontrolovat a vytříit.
- U mlíčáků se provádí stimulace jen u druhů s malým množstvím spermatu. Je nezbytné stimulovat především sumce velkého, lína a jestery. Doba odběru spermatu je až po 24 hodinách od injekce.
- Po hormonálních stimulacích je nutné udržovat stejnoměrnou výtěrovou teplotu, případně ji nepatrně zvyšovat. Jikernačky a mlíčáci jsou připravováni vždy odděleně, ale pokud možno na společném okruhu vody z důvodu stimulace feromony. U sumce je připravováno každé zvíře v separátním oddělení s dostatkem kyslíku (alespoň 5-6 mg O₂·l⁻¹).

Výtěr spermatu

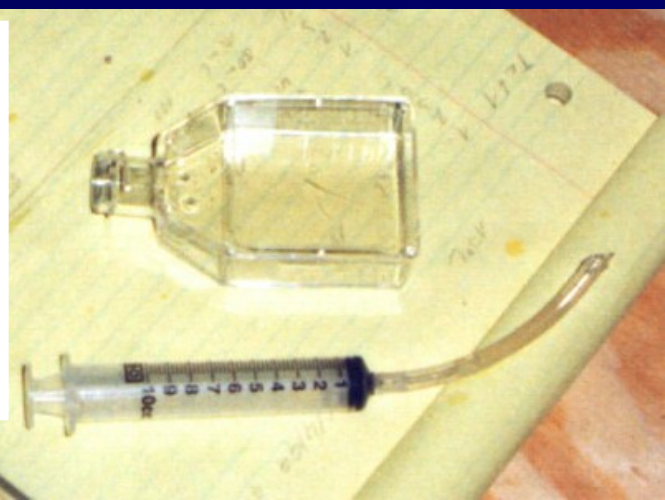
- Nekontaminové sperma močí vytíráme odděleně do zkumavek, odběrných kontejnerů nebo přímo na jikry.
- U spermatu kontaminovaného močí vytíráme sperma přímo do imobilizačního roztoku. Nutné je dodržovat určitý podíl roztoku a spermatu (např. sumec maximálně 1:1 u roztoku 200 mmol NaCl, 30 mmol trisu, pH 7, tzn. 11,8 g NaCl, 3,6 g trisu).
- Po výtěru zaznamenáme do výtěrového listu objem spermatu.

Výtěr spermatu u sumce do imobiliz. roztoku



Nádobka k uchování spermatu v ledničce.

Stříkačka s kanilou pro odběr spermatu jeseterů.



Výtěr jiker

- Nekontaminovat jikry vodou, výkaly, krví, močí.
- V případě kontaminace provést ihned osemenění a aktivaci vodou.
- Nebo oddělit moč od jiker, či část gamet kontaminovaných močí vyhodit.
- U lososovitých ryb se někde praktikuje výtěr jiker do sítok (cedníků).
- Jikry se znaky přezrání (rozpad jiker, bílé jikry, velké množství ovariální plazmy) se nepoužívají k osemenění.
- Vytírají se jikry do dostatečně velkých nádob se známou hmotností. Po výtěru se zaznamenává do výtěrového listu jikernačky hmotnost vytřených jiker. Z hmotnosti vytřených jiker odvozujeme celkové množství jiker.



Výtěr
jikernačky
sumce
velkého

Jikry
sumce
velkého



Krátkodobé uchování spermií a jiker před osemeněním

Viz. Přednáška krátkodobé uchování jiker a spermatu.

- Znalost krátkodobého uchování umožní provádět manipulace s gametami, transport a organizovat práci v líhních.



Výtěr
jesetera

Kontejnery a
stříkačky se
spermatem
na ledu

Kontejner k
uchování
spermatu

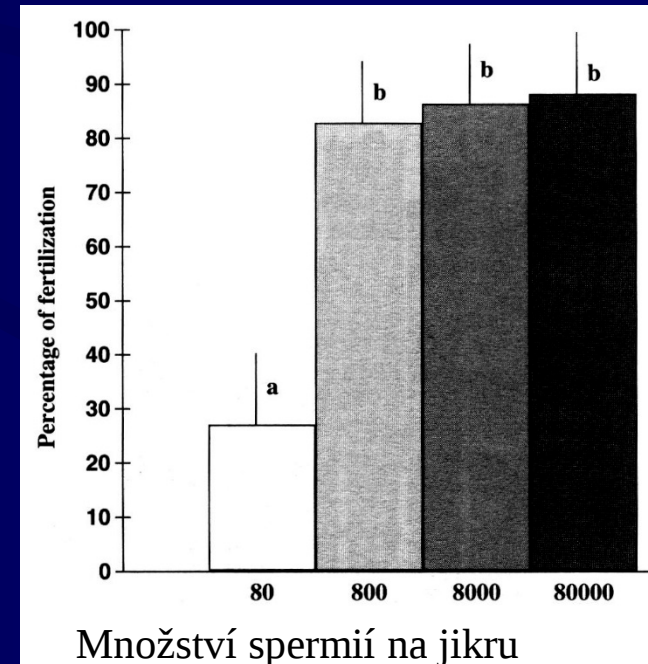


Inseminace jiker a aktivace gamet s kvantifikací spermií na jikru

- Je nutná znalost minimálního množství spermatu k osemenění, pokud je dostatečné množství spermatu používáme větší množství než menší.
- Každé sperma by se mělo naředit vodou nebo aktivačním roztokem alespoň v poměru 1:10. Nedáváme větší objem spermatu než je desetina objemu aktivačního média, tzn. 10 ml spermatu + 90 ml vody.

Příklad vlivu počtu spermií u sumce na úroveň líhnivosti u sumce

Obecně u kaprovitých a lososovitých ryb se používá minimálně 10-30 tisíc spermií/jikru, u sumce a jeseterovitých ryb 1000-10000 spermií na jikru.



Inseminace a aktivace

Osemenění rozdělujeme na:

- Klasické suché kdy po dobrém smísení jiker a spermatu provádíme aktivaci aktivačním roztokem či vodou (lososovité ryby, štika)
- Osemenění „mokrý“ sperma se aktivuje ve vodě a do 10 s se přidává na jikry (jeseterovité ryby, veslosnos)
- Osemenění a aktivace současná tzn. současně po přidání vody či aktivačního roztoku se přidává sperma (sumec, lina) praktikuje se u všech druhů kde se sperma odebírá do imobilizačního roztoku

Příklad proporčního rozdělení gamet, aktivačního a odlepkovacího roztoku u sumce velkého

odlepkovací roztok

aktivační roztok

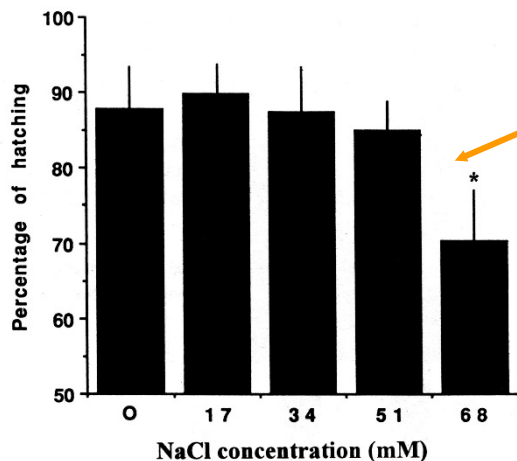


sperma

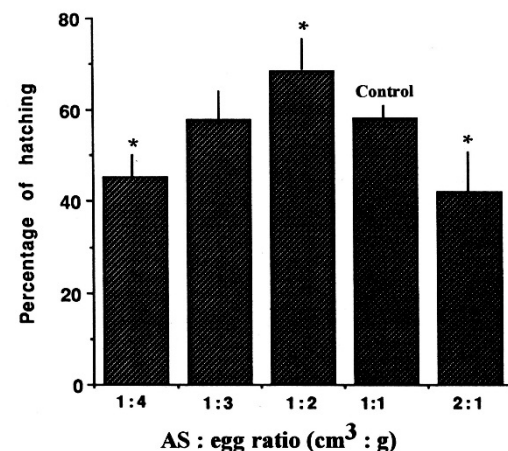
jikry

Aktivace jiker (aktivační roztoky, proporce jiker a aktivačních roztoků)

- Aktivační roztoky používáme pouze u některých druhů ryb specificky doporučených – pstruh duhový, štika, sumec - (1 g NaCl + 0,6 g trisu, pH 8) – zlepšení úrovně oplozenosti).
- U ostatních druhů pouze vodu z líhně.
- V každém případě je nutná znalost proporce vody – aktivačního média k jikrám, u kaprovitých ryb poměr 1:1, sumce 1:2, lososovitých ryb 1: 2-3:, jeseterovití, veslonosovití 2-4:1.
- Doba aktivace je různá podle druhů u ryb s jikrou provokující lepivost musíme do 2-3 minut začít s odlepkováním.



U sumce do úrovně 34 mmol NaCl (2g) NaCl je dobrá líhnivost, úroveň 68 mmol (4g) NaCl se významně sníží oplozenost.



Poměr AS (aktivačního roztoku): jikrám. Poměry s nízkým množstvím aktiv. média či velkým množstvím jiker snižují líhnivost.

Odstranění lepivosti jiker

- Provádí se ručně ve větší misce nebo přímo v inkubačních aparátech s probublávajícím vzduchem.
- suspenzí jílu, talku (20-50 g/l), mlékem – dlouhodobé odlepkování (40-70 minut).
- Proteolytický enzym - alkaláza (krátkodobě 2 minuty).



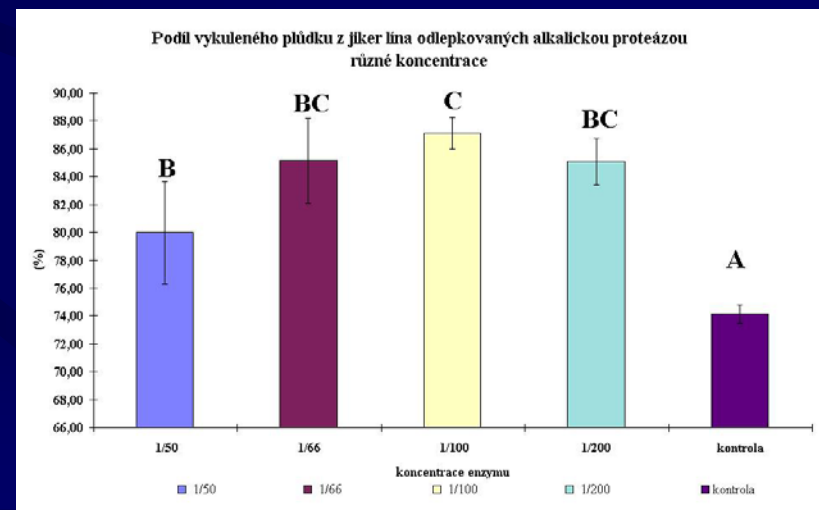
Eliminace lepivosti jiker enzymem

Při použití enzymu:

- Nutno ověřit účinnost enzymu na vzorku jiker, především při přechodu na enzym s jinou aktivitou.
- Je nutné dodržovat přesný čas na sekundy, koncentraci a teplotu.



Vysoká koncentrace enzymu a použití klasické metody odlepkování mlékem měla za následek snížení líhnivosti u lína

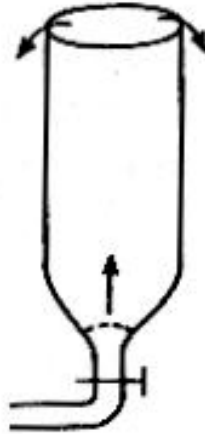


Inkubace jiker

Pro
kaprovité,
jeseterovité,
štiku



Chaseova, nebo Mc
Donaldova lahev



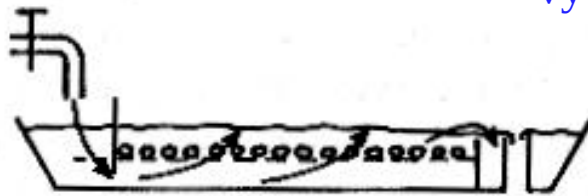
Zugská lahev

Dále
Kanengiterova
lahev – není
vyobrazena

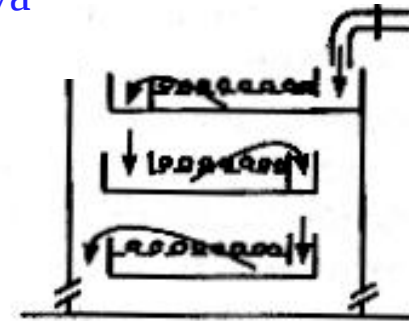


Čínský typ pro tolstol.,
amura

Pro
lososovité
ryby



Kalifornský typ pro lososovité



Vertikální inkubátor pro
lososovité

Otomar Linhart, Řízená reprodukce ryb, 2018

Fig. 17. Various devices used for incubation of some cyprinid, pike and salmonid eggs.

Jikry sumce



Inkubace jiker

- U každého druhu je doba inkubace dána počtem denních stupňů tzn. denní teplota x počet dnů inkubace, příklad štika 120 °D, při teplotě 10 °C to bude 12 dnů, při teplotě 7 °C to bude 17 dnů.
- Procento oplozenosti stanovíme do 24 h u teplotomilných ryb a 72 h u chladnomilných ryb.
- V průběhu inkubace je potřeba ošetřovat vodu a to UV zářením (viz líheň).
- Pravidelně se jikry v inkubačních aprátech „čistí“ tzn. odstraňují se bílé jikry (mrtvé jikry a embrya v různém stupni vývoje).
- Vykulený váčkový plůdek se u lososovitých ryb ponechává v inkubačních aparátech u kapra a lína se přenáší do speciálních inkubátorů pro váčkový plůdek.

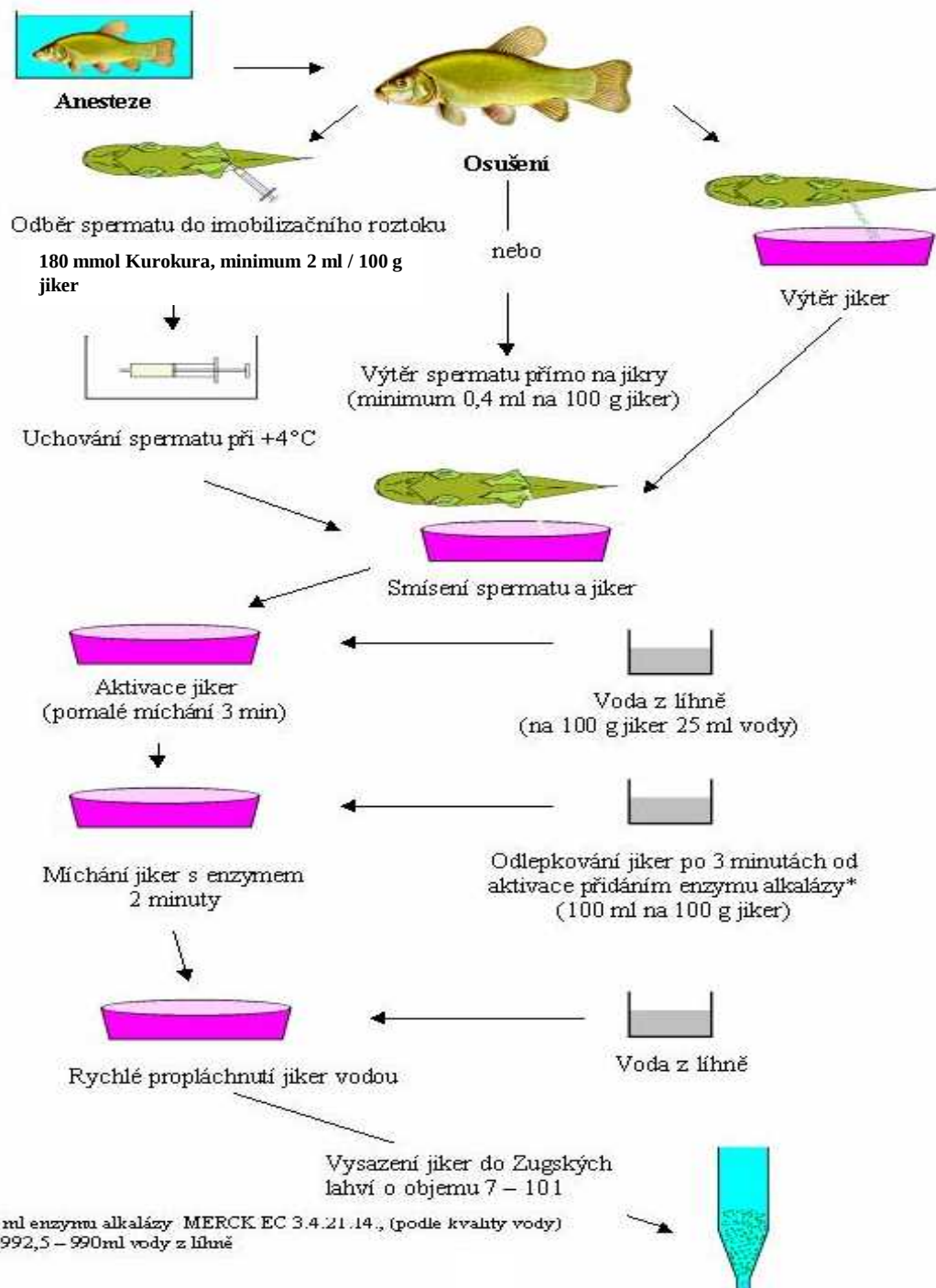
Vykulžený váčkový plůdek

- Vykulžený váčkový plůdek je až do období do rozplavání chován v inkubátorech pro jikry (lososovité ryby) nebo ve speciálních inkubátorech s horním přítokem vody (nádoby s materiálem přírodním nebo umělým důležité k zavěšení plůdku do rozplavání) – viz. ukázka na líně
- nebo spodním přítokem vody (modifikovaný Dněpr) viz. líheň VURH, nebo bočním přítokem vody (čínský typ pro tolstolob. a amura)



Čínský inkubátor pro jikry a váčkový plůdek tolst. a amura a váčkový plůdek kapra (průměr 3-4 m).

Metodika osemenění, aktivace a odlepkování u lína obecného



Odchov plůdku do stáří „rozkrmeného plůdku“

Pro kvalitní růst a dostatečné přežití váčkového plůdku do stádia rozkrmeného plůdku tzn. ještě v období larválním s pozdějším přechodem do juvenilního stádia je nutné dodržování základních zootechnických předpokladů chovu specifického druhu ryb s dostatečnou výživou (v tomto období ještě nejsou plně vyvinuty orgánové systémy, především trávicí systém) bohatou na vysoký obsah proteinů a nenasycených mastných kyselin a všech přirozených látek nutných k trávení (viz. metodiky jednotlivých druhů ryb).