

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Fakulta rybářství a ochrany vod

# **Bakalářská práce**

2015

Jiřina Schacherlová

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**PRACOVNÍ PLODNOST MLÍČÁKŮ  
JESETERA MALÉHO  
V PROVOZNÍCH PODMÍNKÁCH  
ČESKÝCH CHOVŮ**

**Autor:** Jiřina Schacherlová

**Vedoucí bakalářské práce:** Ing. Marek Rodina, Ph.D.

**Konzultant bakalářské práce:** Ing. David Gela, Ph.D.

**Studijní program a obor:** B4103 Zootechnika, Rybářství

**Forma studia:** Kombinovaná

**Ročník:** 3

České Budějovice, 2015

### **Prohlášení o autorství:**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části database STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 08.05.2015

.....  
Jiřina Schacherlová

**Poděkování:**

Tímto bych velmi ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Marku Rodinovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Davidu Gelovi, Ph.D. za cenné rady a odbornou pomoc při tvorbě této bakalářské práce a paní Marii Pečené za obětavou a trpělivou pomoc v laboratoři. Velké poděkování patří také mým rodičům a kamarádu Bc. Vojtěchu Horovi za obrovskou podporu.

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jiřina SCHACHERLOVÁ**  
Osobní číslo: **V11B020K**  
Studijní program: **B4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Pracovní plodnost mlíčáků jesetera malého v provozních podmínkách českých chovů**  
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem práce je v podmínkách českých chovů exaktně zjistit dosahovanou pracovní plodnost mlíčáků jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) jako technologicky důležitý parametr.

Postup:

Teoretická část by měla obsahovat:

- obecnou teorii týkající se plodnosti u ryb, (termíny, definice...)
- metody zjišťování a vyjadřování plodnosti
- shrnutí dostupných informací u různých druhů ryb se zaměřením na jeseterovité.

Praktická část bude zahrnovat:

- fyzické zjišťování ukazatelů plodnosti (vážení, odběry vzorků, počítání koncentrace...)
- statistické zpracování získaných dat.
- srovnání dosažených hodnot mezi jednotlivými chovy, literárními údaji a jinými druhy

Nezbytným předpokladem pro vypracování bakalářské práce je:

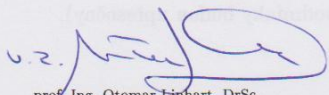
- nastudování problematiky v literatuře
- aktivní účast při výtěrech jesetera malého na pracovišti FROV případně v dalších chovech (rybí líheň Mydlovary, Rybářství Pohořelice, termíny a podmínky budou upřesněny).

Rozsah grafických prací: **max. 20 stran A4**  
Rozsah pracovní zprávy: **max. 30 stran A4**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:

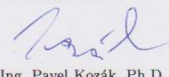
**Příklady doporučené literatury:**

**Baruš V., Oliva O.: Mihulovci a ryby 1, 2, Academica Praha, 2002**  
**Dettlaff T.A., Ginsburg A.S., Schmalhausen O.I.: Sturgeon Fishes, Sprinter - Verlag Berlin, 1993**  
**Hochleithner M.: Störe, Österreichischer Agrarverlag, Klosterneuburg, 1996**  
**Časopisy Aquaculture, Osetrovoe Chozajstvo**

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Marek RODINA, Ph.D.**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický  
Konzultant bakalářské práce: **Ing. David Gela, Ph.D.**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický  
Datum zadání bakalářské práce: **7. prosince 2012**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2014**

  
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zátiší 728/II  
389 25 Vodňany (2)

  
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2013

## OBSAH

<b>1. Úvod</b> .....	8
<b>2. Literární přehled</b> .....	9
<b>2.1. Jeseteři</b> .....	9
2.1.1. Charakteristické znaky .....	10
2.1.2. Systematika chrupavčitých ryb .....	10
2.1.3. Ohrožení jeseterů .....	12
<b>2.2. Akvakulturní chov</b> .....	14
<b>2.3. Jeseter malý (<i>Acipenser ruthenus</i>)</b> .....	16
<b>2.4. Plodnost ryb</b> .....	19
2.4.1. Plodnost .....	19
2.4.2. Rozdělení a příklady vyjadřování plodnosti .....	19
2.4.3. Způsoby zjišťování a výpočtu ukazatelů plodnosti .....	21
2.4.4. Faktory ovlivňující plodnost u ryb .....	22
2.4.5. Přehled plodností u různých druhů ryb .....	23
<b>2.5. Sperma</b> .....	23
2.5.1. Semenná plazma .....	24
2.5.2. Spermie chrupavčitých ryb .....	24
2.5.3. Vznik a pohyb spermií .....	25
<b>2.6. Generační ryby – získání mlíčáků</b> .....	26
2.6.1. Řízená reprodukce .....	27
2.6.1.1. Teplotní a hormonální stimulace .....	27
2.6.1.2. Výtěr mlíčáků, odběr a krátkodobé uchování spermatu .....	28
<b>2.7. Hodnocení spermatu</b> .....	29
2.7.1. Makroskopické .....	29
2.7.2. Mikroskopické .....	30
2.7.2.1. Posuzování pohyblivosti spermií .....	30
2.7.2.2. Zjišťování koncentrace spermií .....	32
<b>2.8. Použití odebraného spermatu</b> .....	33
<b>3. Materiál a metodika</b> .....	34
<b>3.1. Původ generačních mlíčáků a jejich věk</b> .....	34
<b>3.2. Výtěr mlíčáků</b> .....	34
<b>3.3. Nastavení mikroskopu a příprava vzorků</b> .....	35

3.4. Zjišťování koncentrace .....	36
3.5. Metody matematických a statistických výpočtů .....	36
4. Výsledky .....	37
4.1. Hmotnost mlíčáků .....	42
4.2. Objem spermatu.....	43
4.3. Koncentrace spermií ve spermatu .....	44
4.4. Objem spermatu na $1\text{kg}^{-1}$ mlíčáka .....	45
4.5. Celková pracovní plodnost .....	46
4.6. Relativní pracovní plodnost.....	47
5. Diskuze .....	48
5.1. Diskuze k výsledkům.....	48
5.2. Diskuze k plodnosti v širších souvislostech .....	50
6. Závěr .....	52
7. Přehled použité literatury .....	53
8. Přílohy .....	60
9. Abstrakt .....	74
10. Abstract.....	75



# 1. Úvod

Mezi nejstarší obratlovce, kteří dosud žijí na naší planetě, řadíme jesetery. I když dnes známe 27 druhů jeseterů, jejich počet a areál přírodního rozšíření se neustále zužuje. Z tohoto důvodu mnoho druhů jeseterů řadíme na seznam ohrožených nebo kriticky ohrožených druhů. Příčinou tohoto neutěšeného stavu je soubor negativních vlivů. Většina z nich přímo nebo nepřímo ovlivňuje přirozenou reprodukci. Jelikož jsou jeseteři charakterističtí pozdním dosahováním pohlavní dospělosti (až 20 let) a reprodukce u většiny druhů neprobíhá každý rok, má každý negativní zásah do přirozené reprodukce značné následky pro populace divoce žijících ryb. Jelikož je velmi obtížné eliminovat některé negativní vlivy na populace volných vod, zejména pytláctví a nadměrný rybolov, je vhodné chovat populace jeseterů v řízených podmínkách. Vzhledem k odlišnostem v reprodukci jeseterů od většiny chovaných druhů ryb, je i v řízeném prostředí zcela zásadní úspěšná reprodukce. Ale i v řízených podmínkách je mnoho faktorů, které ovlivňují úspěšnou reprodukci. Ať už se jedná o vliv prostředí, ve kterém jsou ryby chovány (chemické a fyzikální vlastnosti vody, teplota, prostorné bazény, aj.), kvalita potravy, náchylnost ryb k nemocem nebo manipulace s rybami. Tyto faktory se odrážejí na kvalitě každého jedince. Pro úspěšnou produkci ryb je zapotřebí mít k dispozici kvalitní generační ryby, které zajistí dostatečné množství nasadového materiálu pro vlastní chov. Kvalita generačních ryb se hodnotí i podle jejich plodnosti. Plodnost je charakterizována jako schopnost produkovat oplození schopné gamety a hodnotí se několika parametry. Znalost těchto parametrů u jednotlivých generačních ryb nám umožňuje zejména plánování a navyšování produkce ryb v akvakultuře.

Cílem této bakalářské práce je zjistit, jaké pracovní plodnosti dosahují mlíčáci jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v provozních podmínkách českých chovů. Jedná se o generační mlíčáky z uzavřeného chovu pokusného zařízení Genetického rybářského centra FROV JU ve Vodňanech a z rybí líhně Rybníkářství Pohořelice, a. s. Dalším cílem je porovnat mezi sebou tyto dva chovy, neboť se jedná o dvě rozdílné populace (ve Vodňanech je chována populace dovezená z Ruska a v Pohořelicích jde o populaci z Dunaje) a dále zjištěné výsledky porovnat s dostupnými informacemi o plodnosti jiných druhů ryb.

## 2. Literární přehled

### 2.1. Jeseteři

Jeseteři patří mezi nejstarší obratlovce, které můžeme dodnes na naší planetě spatřit, řadí se do nadřádu chrupavčitých ryb (*Chondrostei*). Podle nalezených fosilií se jejich vývoj datuje od období spodní jury před více než 250 milióny lety (Bemis a kol., 1997). Skuteční jeseteři se objevují ve fosilním záznamu během horní křídy. Jsou označováni jako „primitivní ryby“, protože jejich morfologické znaky zůstaly během této dlouhé doby relativně beze změny, což je patrné z jejich archeologických nálezů (Gardiner, 1984). Díky jejich mimořádně pomalému vývoji jsou neformálně označováni jako žijící fosilie (Krieger a kol., 2002).

V současné době žije na naší planetě 27 druhů jeseterů, kteří spadají do řádu jeseteři (*Acipenseriformes*). Tento řád se dělí na dvě čeledě, a to jeseterovití (*Acipenseridae*) a veslonosovití (*Polyontidae*). Přirozeně žijící druhy najdeme pouze na severní polokouli. Vyskytují se v oblastech od subtropických až subartických vod v Severní Americe a Euroasii, podél evropského atlantického pobřeží včetně Středozevní pánve, dále v řekách, které ústí do Černého, Azovského a Kaspického moře (Dunaj, Dněpr, Volha, Don), řeky tekoucí na severu Ruska, v řekách střední Asie (Amudarja a Syrdarji), v jezeře Bajkal, v řece Amur až po Rusko – čínské hranice, na ostrově Sachalin, v řece Yangtze a dalších řekách v severovýchodní Číně (Berg, 1962), (Froese a kol., 2007). Není známo, že by se jakýkoli druh přirozeně vyskytoval na jih od rovníku (Duke a kol., 1999).

Jeseterovití zahrnují druhy, kteří dorůstají v dospělosti délky od desítek centimetrů po několik metrů a váhy od stovek gramů po několik tun. Tyto ryby patří mezi dlouhověké, mohou se dožít i více jak 100 let. S tímto je spojeno i jejich relativně pozdní pohlavní dospívání, mezi 6 – 25 lety (Gela a kol., 2009). Pohlavně zralé samice nejsou schopné každoročního výtěru. Jeseteři jsou schopni křížit se mezi jednotlivými druhy navzájem díky velké genetické podobnosti. Díky tomu vznikají nejrůznější mezidruhová hybridy, kteří se dokáží dále rozmnožovat. Jeseterovitým rybám chybí některé reflexy, převážně únikový (Hochleitner, 2004). Největší ulovenou rybou tohoto druhu byla vyza velká, která patří mezi největší ryby na světě, vytírající se ve sladkých vodách. Byla ulovena roku 1736, měřila 8,5 metru a vážila 2 075 kg (Saffronová, 2004).

Jeseteři se živí především ze dna, kde využívají své vousky k detekci skořápek korýšů, larev hmyzu a malých ryb. Nemají zuby, přesto jsou schopni ulovit kořist. Potravu sají ze dna pomocí úst na spodině hlavy, která dokážou podle potřeby roztáhnout. Větší jedinci mohou spolknout i velkou kořist (Zolotukhin a Kaplanova, 2007).

### 2.1.1. Charakteristické znaky

- Tělo je protáhlé a vřetenovité, v zadní části laterálně zploštělé.
- Od hlavy k ocasu se táhne pět podélných řad velkých kostěných štítků tzv. ganoidních šupin; tvar, velikost i počet se liší u jednotlivých druhů.
- Veslonosovití mají tělo bez šupin – lysé.
- Mají chrupavčitou kostru, jejíž osou je nezaškrcovaná struna hřbetní bez vyvinutých těl obratlů (částečná osifikace pouze na lebce).
- Heteroceršní ocasní ploutev jako mají žraloci, horní lalok ocasní ploutve je výrazně delší než spodní.
- Ústa se nacházejí na spodině hlavy, u většiny druhů vybíhají v jakousi trubici.
- Plochá hlava vybíhá ve špičatý rypec, délka a tvar se podle druhu liší.
- Jícen spojen s plynovým měchýřem, spirální řasa ve střevě.
- Jeseterovití mají čtyři hmatové vousky.

(Helfman, 2009)

### 2.1.2. Systematika chrupavčitých ryb

**Třída:** Ryby – *Osteichthyes*

**Podtřída:** Paprskoploutví – *Actinopterygii*

**Nadřád:** Chrupavčití – *Chondrostei*

**Čeleď:** Veslonosovití – *Polyodontidae*

**Rod:** *Polyodon* (autochtonní v Severní Americe)

**Druh:** Veslonos americký – *P. spathula*

**Rod:** *Psephurus* (autochtonní v Asii)

**Druh:** Veslonos čínský – *P. gladius*

**Čeleď:** Jeseterovití – *Acipenseridae*

**Rod:** *Acipenser*

**Druh:** Jeseter krátkonosý – *A. brevirostrum*

Jeseter jezerní – *A. fulvescens*

Jeseter zelený – *A. medirostris*

Jeseter ostronosý – *A. oxyrinchus*

Jeseter bílý – *A. transmontanus*

(autochtonní v Severní Americe)

Jeseter ruský – *A. gueldenstaedtii*

Jeseter jadranský (adriatický) – *A. naccarii*

Jeseter hladký – *A. nudiiventris*

Jeseter malý – *A. ruthenus*

Jeseter hvězdnatý – *A. stellatus*

Jeseter velký – *A. sturio*

(autochtonní v Evropě)

Jeseter sibiřský – *A. baerii*

Jeseter jihočínský – *A. dabryanus*

Jeseter sachalinský – *A. mikadoi*

Jeseter perský – *A. persicus*

Jeseter amurský – *A. schrencki*

Jeseter čínský – *A. sinensis*

(autochtonní v Asii)

**Rod:** *Pseudoscaphirhynchus* (autochtonní v Asii)

**Druh:** Lopatonos kaufmannův (malý) – *P. hermanni*

Lopatonos kaufmannův (velký) – *P. kaufmanni*

Lopatonos fedtshenkův – *P. fedtschenkoi*

**Rod:** *Scaphirhynchus* (autochtonní v Severní Americe)

**Druh:** Lopatonos alabamský – *S. suttkusi*

Lopatonos bílý (velký) – *S. albus*

Lopatonos americký (obecný) – *S. platorhynchus*

**Rod:** *Huso*

**Druh:** Vyza velká – *H. huso* (autochtonní v Evropě)

Vyza malá (sibiřská) – *H. dauricus* (autochtonní v Asii)

(Kahanec a kol., 2010)

### 2.1.3. Ohrožení jeseterů

Vzhledem k dlouhému reprodukčnímu cyklu jeseterů, dlouhé migraci a citlivosti na podmínky prostředí, je mnoho druhů vážně ohroženo nadměrným rybolovem, pytláctvím, znečištěním vod, přehrazováním řek (Clover, 2004), kolísající hladinou vody, těžbou šterku a nedovoleným obchodem s touto rybou (Rochard a kol., 1990). Dále to může být ztráta přirozeného prostředí a degradace včetně narušení migrace, potenciální změna genetického a ekologického stavu zavedením exotických druhů a genotypů (Bloesch, 2006). Podle nynější verze Červeného seznamu ohrožených druhů je z celkového počtu dvaceti sedmi druhů jeseterů více než 85 % klasifikováno jako kriticky ohrožený druh, kterému hrozí vyhynutí (*Acipenser sturio*, *A. stellatus*, *A. sinensis*, *A. schrenckii*, *A. persicus*, *A. nudiventris*, *A. naccarii*, *A. mikadoi*, *A. gueldenstaedtii*, *A. dabryanus*, *Huso dauricus*, *H. huso*, *Psephurus gladius*, *Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi*, *P. hermanni*, *P. kaufmanni*, *Scaphirhynchus suttkusi*), další dva druhy jsou považovány za ohrožené (*A. baerii*, *S. albus*) a čtyři jako

zranitelné (*A. ruthenus*, *A. brevirostrum*, *P. spathula*, *S. platyrhynchus*). Ze zbylých čtyř druhů jsou dva označovány jako ohrožený druh (*A. oxyrinchus*, *A. medirostris*) a dva poslední stojí mimo ohrožení (*A. fulvescens*, *A. transmontanus*) (IUCN Red list 2013).

Patrný je pokles jeseteřích populací se zvyšujícím se zájmem a poptávkou po kaviáru a jeseteřím mase. Zájem o tuto lahůdku vedl v druhé polovině minulého století k enormnímu nárůstu legálního, ale především ilegálního odlovu ryb z volných vod za účelem získání luxusního zboží pro nelegální obchodování s tímto zbožím (Ludwig, 2008). Po rozpadu bývalého Sovětského svazu je nejkritičtější situace s nárůstem pytláctví v oblasti Euroasie (Pikitch a kol., 2005, De Meuleaer a Raymakers, 1996). I přes snahu navrátit ohrožené druhy do volných vod, došlo u druhů, které produkují kaviár (vyza velká, jeseter ruský, jeseter perský a jeseter hvězdnatý) k enormnímu poklesu početnosti volně žijících populací. (Pikitch a kol., 2005). To vedlo v roce 1998 k zařazení všech druhů jeseterů do příloh Úmluvy o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin (CITES).

Jeseteři jsou silně migrující ryby. Někteří žijí ve sladkých vodách po celý život, ale většina druhů část svého života tráví v mořích a podniká dlouhé migrační cesty za účelem reprodukce do horních toků řek na výtěrová místa. Poté se vrací zpět. Oproti tomu raná stádia jeseterů a juvenilové migrují na dolní toky řek, kde je hojnost potravy pro jejich zdárný vývoj (Billard a Lecointre, 2001). Jakékoli stavby, přehrad a umělé překážky na řekách, které rybám znesnadňují cestu na místa přirozeného výtěru, vedou k postupnému vymírání volně žijících populací (Wu a kol., 2004). Přetváření říčních koryt, narovnávání toků, zanášení bahnem a naplaveninami, devastace trdlišť a znečištění vod přetváří přirozené podmínky pro rozmnožování a život jeseterů. Vedle zhoršující se kvality pohlavních orgánů a tím i reprodukční schopnosti ryb, se zvyšuje vnímavost vůči nemocem a parazitům a v konečném důsledku dochází k úbytku přirozeně dostupné potravy pro všechny věkové skupiny (Altuf'ev, 1997, Debus, 1997). Některé těžké kovy a toxické látky obsažené ve znečištěných vodách mohou způsobovat svalovou atrofii u jeseterů (Khodorevskaya a kol., 1997), poruchy gametogeneze a výskyt abnormalit (Moiseeva a kol., 1997, Ruban, 1997) anebo mohou mít hepatotoxické účinky (Geraskin, 1995).

## 2.2. Akvakulturní chov

Chov jeseterů v řízených podmínkách má již dlouholetou historii, první zmínky jsou datovány před více jak sto lety (Hochleithner, 2004). Chovní jedinci byli odlovováni z volné přírody při migraci na výtěrová místa nebo přímo na trdlištích, kde byli usmrceni a byly jim odebrány ovulované oocyty s následným umělým oplodněním, aktivací a inkubací jiker (Gela a kol., 2008). Během roku 1977 došlo k největšímu odlovu jeseterovitých ryb z volné přírody, který dosáhl 32 078 t (FAO, 2013).

Kvůli poklesu stavu volně žijících populací jeseterů došlo k rozvoji jejich chovu a produkci v umělých podmínkách. V letech 1880 až 1920 v Evropě a Severní Americe proběhly první neúspěšné pokusy o rozvoj akvakulturního chovu (Doroshov, 1985). Bývalý Sovětský svaz je označován za první zemi, kde byla v padesátých letech minulého století úspěšně provedena umělá reprodukce jeseterů (Barannikova, 1987). Další úspěšný umělý výtěr mimo území bývalého SSSR byl proveden až v roce 1979 na Kalifornské univerzitě v USA u jesetera bílého (*A. transmontanus*) (Hung, 1991). Od této doby došlo v akvakulturním chovu jeseterů jak na světě tak i u nás k obrovskému pokroku. Přestože vývoj vědy a techniky jde neustále kupředu a jednotlivé rybí líhně už mají na chov své specifické metody, přesto většina technologií využívaných v chovu jesetera vychází ze „sovětských“ zkušeností (Hochleithner, 2004).

Během let se začal zvyšovat zájem o chrupavčité ryby. Ať už to byla snaha o navrácení ohrožených druhů zpět do volné přírody, produkci násadového materiálu a následný odchov pro maso, kaviár nebo pro dostupnější informace a propracované metody chovu, vše vedlo k tomu, že se chrupavčité ryby stávaly perspektivním druhem pro stále více chovatelů po celém světě i pro akvakulturní chov (Gela a kol., 2012). Až rozvoj uzavřených chovů, kde se generační ryby nezískávají odlovem z volných vod, zaznamenal obrovský posun v produkci jeseterovitých ryb (Billard a Lecointre, 2001).

Rybí farmy zaměřující se na chov jeseterů můžeme najít i v zemích, kde se jeseter nikdy dříve nevyskytoval, např. ve Vietnamu, Turecku, Finsku, Saudské Arábii aj. (Gela a kol., 2012). Většina farem vznikla na konci minulého století, což vedlo k nárůstu akvakulturní produkce jeseterů ve světě. Největší vzestup akvakulturní produkce během posledního desetiletí byl zaznamenán v Asii, kde roční produkce činila 35 936 t (FAO, 2013). FAO dále uvádí, že celosvětové prvenství v chovu chrupavčitých

ryb patří Číně s 35 324 t za rok, evropské prvenství si i nadále drží Rusko s 2 078 t, následované Itálií (753 t) a Německem (93 t).

V České republice je za první chov jeseterů považován import v roce 1988 z Německé demokratické republiky (dále v textu NDR). Jednalo se o rozplavaný plůdek bestěra (mezidruhový kříženec *H. huso* a *A. ruthenus*), který byl dovezen do tehdejšího hodonínského střediska Rybářství Přerov. Na jaře následujícího roku sem bylo opět z NDR přivezeno k dalšímu chovu ještě 100 kg asi tříkilového bestěra (Gela a kol., 2012).

V naší republice se chovem chrupavčitých ryb v současné době zabývá několik významných rybích líhni. Patří mezi ně rybí líheň Mydlovary, která započala svou činnost v letech 1992. V této době patřila pod Rybářství Hluboká cz. s.r.o. (aktuální název). V roce 2011 se se změnou nájemce změnil i název na BaHa s.r.o. V Mydlovarech se chová jeseter malý (*A. ruthenus*), jeseter sibiřský (*A. baerii*), jeseter hvězdnatý (*A. stellatus*) a veslonos americký (*P. spathula*). V roce 1996 se zde úspěšně podařila první řízená reprodukce jeseterů a jejich následný odchov. Dalším chovatelem jeseterovitých ryb je Rybníkářství Pohořelice a. s., které nákupem a importem remontních jedinců jesetera malého (*A. ruthenus*) ze Slovenska v roce 2001 a 2003 započalo svůj vlastní chov. První řízená reprodukce této populace pocházející z řeky Dunaje proběhla až v roce 2008, kdy ryby pohlavně dozrály (Gela a kol., 2012). Největším producentem chrupavčitých ryb u nás, co se do počtu chovaných druhů týče, je Genetické rybářské centrum Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity ve Vodňanech. Od 90. let minulého století se zde vědečtí pracovníci zabývají výzkumem a chovem jeseterovitých ryb. Prvotní pokusy probíhaly na pracovištích a v laboratořích v zahraničí (Francie, USA, ČLR) (Gela a kol., 2009). Od roku 2001 si na rybí líhni ve Vodňanech začali budovat vlastní sbírku ryb a nynější kolekce deseti druhů různých populací a věkových kategorií ji řadí mezi unikát. Tato živá genová banka je jednou z největších na světě. Ve Vodňanech se chová jeseter ruský (*A. gueldenstaedtii*), jeseter sibiřský (*A. baerii*), jeseter malý (*A. ruthenus*), jeseter hvězdnatý (*A. stellatus*), vyza velká (*H. huso*), veslonos americký (*P. spathula*), jeseter atlantský (*A. oxyrinchus*), jeseter krátkorypý (*A. brevirostrum*), jeseter bílý (*A. transmontanus*) a jeseter jadranský (*A. naccarii*) (Gela a kol., 2012; Gela a kol., 2013).



Nyní se pravidelně v chovech v ČR vytírají 3 druhy jeseterů a to jeseter sibiřský (*A. baerii*), jeseter malý (*A. ruthenus*) a jeseter ruský (*A. gueldenstaedtii*). Během několika let se očekává, až remontní ryby dosáhnou své pohlavní dospělosti, že se počet pravidelně se vytírajících druhů rozroste o další (Gela a kol., 2012).

### **2.3. Jeseter malý (*Acipenser ruthenus*)**

Jeseter malý (Příloha, Obr. č. 1) je jedním z nejmenších euroasijských druhů jeseterů. Jedná se o běžný domácí druh v mnoha evropských zemích (Rusko, Bělorusko, Bulharsko, Maďarsko, Rumunsko) a zemích světa (Čína, Turecko). Jeseter malý se vyskytuje ve velkých řekách, obvykle v hluboké proudící části toku. Při vzestupu hladiny migruje do mělkých zaplavených oblastí za potravou. Patří mezi sladkovodní druhy. Anadromní populace byla vyhubena (Vostradovsky, 1973). Hlavní výskyt populací je v řekách Ural, Volha a Dunaj, kde jsou poměrně stabilní populace po předchozím velkém poklesu. I když patří v současné době stále mezi nejrozšířenější druh jeseterů v povodí Dunaje, dříve se pohyboval v mnohem větším počtu od delty až k Ulmu v Německu a také v mnoha přítocích Dunaje (Isar, Inn, Sava, Váh a jejich přítocích). Divoké populace tohoto druhu téměř vymizely z Horního Dunaje (výskyt v Německu a Rakousku silně závisí na vysazování), s výjimkou jedné údajné autochtonní reliktní populace na rakousko-německých hranicích (Riede, 2004). Na konci 19. století byl podporován rozsáhlý rybolov tohoto druhu. V průběhu posledních tří generací došlo k dramatickému poklesu divokých populací. Odhadovaný pokles byl až 50 %. Příčina poklesu nebyla dostatečně objasněna. Po roce 1990 došlo k pozvolnému nárůstu populací. Má se za to, že to bylo v souvislosti se snižujícím se zemědělským znečištěním. Zaznamenané úlovky v Ruské federaci mezi roky 1990 a 1996 se snížily téměř o 40 % (Kottelat and Freyhof, 2007). Ve středním a dolním toku Dunaje není tento druh loven ve velkém. Průzkumy ukazují, že tato oblast Dunaje (Rumunsko, Srbsko a Maďarsko) je důležitá pro přirozenou reprodukci tohoto druhu (Paraschiv a kol., 2006). Pokles původních populací je i tak poměrně značný a proto je nutné přijímat opatření zabraňující tomuto poklesu. Vhodným opatřením například bylo zavedení vývozní kvóty pro kaviár Ruskou federací v roce 2000. V současné době se klade velký důraz na dodržování platné legislativy regulace až zákazu odlovu ryb z volných vod

v evropských zemích. Velkou podporu mají záchranné programy na opětovné vysazování juvenilních populací do povodí Dunaje a Drávy (Gessner a kol., 2010).

Jeseter malý je poměrně snadno odlišitelný od ostatních evropských druhů jeseterů přítomností velkého množství bělavých bočních štítků a bílým lemováním těla i ploutví. Štítky jsou světlejší než tělo. Má 11 - 18 hřbetních štítků, 56 - 71 bočních štítků, 10 - 20 břišních štítků, 32 - 54 ploutevnických paprsků ve hřbetní ploutvi a 16 - 34 ploutevnických paprsků v řitní ploutvi. Rypec je dlouhý a špičatý s obrvenými vousky a spodní ret je rozdělený. Jeseter malý dosahuje obvykle hmotnosti 3 až 4 kg a 40 až 60 cm délky (maximální publikovaná délka je 125 cm a váha 16 kg). Je velmi variabilní ve zbarvení, tělo je tmavě hnědé, na hřbetě až šedé, břicho bílé. Je poměrně krátkověký, nedožívá se více jak 15 let. Maximální stáří je známo u populací v Dunaji (24 let). Obývá nížinné a podhorské oblasti řek a jen občas migruje do brakické vody ústí řek za potravou (Kottelat and Freyhof, 2007). Tento druh jesetera je poměrně málo migrující, označené experimenty na řece Dunaji ukázaly maximální migrační vzdálenost kolem 300 km. V řece Volze byly do konce 19. století známy migrující populace, které obývaly severní část Kaspického moře a na podzim se pohybovaly proti proudu řeky (Lucas a kol., 2001).

Jeseter malý se živí širokou škálou bentických organismů, zejména larvami hmyzu, měkkýši, máloštětinatými červy, koryši a nepohrdnou ani zooplanktonem či jikrami jiných ryb. Při poklesu teploty vody vytváří ryby velká hejna v nejhlubších částech řeky nebo v prohlubních, kde zimují bez příjmu potravy (Kottelat and Freyhof, 2007).

V akvakulturním chovu nastává pohlavní dospělost ryb o něco dříve a jedinci dosahují i větších velikostí než ve volné přírodě (Gela a kol., 2012). V přirozených podmínkách jeseter malý pohlavně dospívá ve věku 3 - 5 roků (samci) a 4 - 8 roků (samice). Sibiřské populace dospívají později, mlíčáci v 7 - 9 letech a samice v 9 - 12 letech. Průměrný reprodukční věk je asi 10 let, ale v Dunaji je nižší (7 let) v důsledku intenzivního rybolovu. Samice se většinou rozmnožují každé 2 roky, samci každý rok (Kottelat and Freyhof, 2007). Při jarních povodních a vhodné teplotě vody, pohlavně zralé ryby migrují proti proudu na trdliště. Ve středním úseku Dunaje k tomu dochází většinou od dubna do května, kdy se teplota vody pohybuje mezi 8 a 19 °C (Knight a kol., 2010). Optimální teplota pro reprodukci se pohybuje v rozmezí 12 až 17 °C. Ke

tření dochází v korytě toku v hloubce 7 - 15 m, kde jsou jikry kladeny na oblázky a kameny. Zřídka jsou jikry kladeny na písčité dno v úseku s rychlým prouděním vody (Suciú a kol., 1997). Samice může vyprodukovat 7 000 – 100 000 jiker, v závislosti na její velikosti (v řízeném chovu je relativní plodnost 20 000 - 30 000 jiker.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jíkernačky). Velikost jikry je průměrně 1,8 – 2,8 mm, larvy jsou dlouhé 6 - 7 mm, líhnou se za 4 – 5 dní inkubace při teplotě vody 13 °C a po 6 až 7 dnech začínají přijímat potravu. Po tření se ryby pohybují pomalu po proudu do zátok, písčitých mělčin nebo do kanálů s bahnitým dnem, kde se intenzivně krmí. Po vykulení zůstávají jedinci během jejich raného vývoje v trdlišťích na dně v třecím substrátu. Po ukončení raného vývoje toto místo opouštějí a migrují po toku za potravou (Hochleithner a Gessner, 1999).

V intenzivním chovu dobře snáší rybníční podmínky, je odolný proti běžným nemocem, bez velkých problémů přechází při rozkrmu na startérová krmiva a ani mechanické zacházení mu nečiní velké problémy. Výjimkou je manipulace v letních měsících, kdy upadá brzy do šoku. Ryby, které procházejí stresem, uvolňují velké množství kožního sekretu a ten znemožňuje jejich dýchání. V takovémto případě je nutný přítok čerstvé vody k propláchnutí žaber (Gela a kol, 2012).

Jeseteři byli klasifikováni jako ohrožený druh ryb mnoha mezinárodními organizacemi a populace těchto druhů jsou drasticky sníženy většinou v důsledku nadměrného rybolovu, ničení jejich přirozeného prostředí a znečištěním vody (ropné látky, fenoly, PCB, rtuť). Zároveň stavby vodních děl a elektráren mají negativní vliv, protože zabraňují třecím migracím a časté kolísání hladiny, zejména velké snižování, může způsobovat masovou smrt plůdku (Ciolac a kol., 2005).

V roce 1980 se jeseter malý znovu objevil v řece Moravě a v dolním toku řeky Váh. Hlavními důvody tohoto stavu bylo zlepšení kvality vody, umělé rozmnožování a vysazování. Po roce 2005 se ukázalo, že počet populace středního Dunaje se stal nestabilní a opět klesá. Z tohoto důvodu je nutné rozvíjet výzkumný program o příčinách tohoto znepokojivého vývoje a stanovení účinných opatření. Jeseter malý představuje atraktivní model pro biologická studia jeseterů, zejména díky své malé velikosti (nízké náklady na chov) a ranému pohlavnímu dozrávání (Gessner a kol., 2010).

## 2.4. Plodnost ryb

### 2.4.1. Plodnost

Plodnost lze definovat jako schopnost obou pohlaví ryb produkovat zralé, oplození schopné gamety. V přirozených podmínkách plodnost závisí především na druhové příslušnosti, stáří a velikosti ryb, jejich výživném stavu, ale i na mnoha dalších faktorech. Z hlediska druhové příslušnosti ovlivňuje plodnost zejména velikost jiker a rozvinutost úrovně rodičovské péče o jikry a potomstvo. Plodnost našich ryb se pohybuje od několika desítek jiker u hořavky duhové (*Rhodeus sericeus*) až po milióny jiker u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*) a mníka jednovousého (*Lota lota*). V provozní praxi je plodnost ryb jedním ze základních ukazatelů kvality generačních ryb používaných k rozmnožování (Krupauer a Kubů, 1985). V těchto podmínkách je plodnost ovlivněna stářím ryb, jejich zdravotním stavem a tělesnou kondicí, intenzitou příkrmování a počtem výtěrů za rok (Peňáz a kol., 1983). Výrazný vliv má také technologie chovu (Steffens, 1975). Individuální plodnost se zvyšuje s věkem a velikostí těla, ovšem při dosažení určité věkové hranice stagnuje a později výrazně klesá nebo se snižuje kvalita produkovaných gamet (Eenennaam a Doroshov, 1998). Z hlediska šlechtění ryb je plodnost považována za kvantitativní ukazatel, vyjadřující reprodukční schopnost mlíčáků a jikernaček zařazených do plemenitby, v závislosti na fylogenezi druhu a konkrétních podmínkách chovu (Nikolskij, 1965). Znalost plodnosti je jednou z podmínek, abychom mohli s určitou pravděpodobností předpovídat vývoj rybích populací na dané lokalitě (Švátora, 1986) či plánovat produkci larev a plůdku v intenzivních chovech (Kouřil a kol., 2002).

### 2.4.2. Rozdělení a příklady vyjadřování plodnosti

Plodnost lze vyjádřit několika způsoby. Tato vyjádření se mohou různě kombinovat a tím se získá větší přehled o kvalitě generačních ryb. Vyjadřování plodnosti pouze jedním způsobem by mohlo způsobit jednostranný a poměrně zkreslený pohled na kvalitu generačních ryb (Baruš a kol., 1995).

Plodnost ryb je možno uvádět jako:

- *Absolutní* – sleduje se jen u jikernaček, vyjadřuje celkový počet zralých jiker v gonádách samic. Zjednodušeně lze říci, že se jedná o celkový počet jiker od jedné jikernačky během jednoho výtěrového období. Například u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) se nejčastěji pohybuje mezi 0,5 až 1 mil. jiker (Baruš a kol., 1995).
- *Relativní* – u samic se vyjadřuje jako počet jiker na 1 kg živé tělesné hmotnosti jikernačky. U samců se vyjadřuje jako počet spermií na 1 kg živé hmotnosti mlíčáka. Tento způsob daleko lépe vyjadřuje plodnost v závislosti na velikosti ryby a umožňuje stanovit optimální velikost generačních ryb ve vztahu k co nejlepším ekonomickým podmínkám chovu (Baruš a kol., 1995).
- *Pracovní* – toto vyjádření se převážně využívá v provozní praxi, plodnost je definována jako množství ovulovaných a skutečně vytřených jiker nebo odebraných spermií získaných od konkrétní ryby při umělém výtěru. Pracovní plodnost bývá skoro vždy nižší než absolutní nebo relativní, protože při umělém výtěru zůstává část gamet v těle generačních ryb. V praxi se pracovní plodnost může vyjadřovat jako:
  - ***celková pracovní plodnost jikernačky*** v kusech jiker, v objemu jiker s uvedením velikosti jikry, nebo v gramech jiker s uvedením počtu jiker na 1 g.
  - ***celková pracovní plodnost mlíčáka*** v kusech spermií ( obvykle formou součinu  $\times 10^9$ ), nebo v objemu spermatu s uvedením koncentrace spermií, případně hmotností spermatu s uvedením koncentrace spermií a objemové hmotnosti spermatu.
  - ***relativní pracovní plodnost jikernačky*** je celková pracovní plodnost jikernačky vztažená na 1 kg hmotnosti jikernačky.
  - ***relativní pracovní plodnost mlíčáka*** je celková pracovní plodnost mlíčáka vztažená na 1 kg hmotnosti mlíčáka.(Steffens, 1975)

### 2.4.3 Způsoby zjišťování a výpočtu ukazatelů plodnosti

Pro zjišťování plodnosti ryb se využívají různé metody. Mezi nejzákladnější metody patří počítání gamet. Samostatně lze tuto metodu využít velmi omezeně, protože přímo lze počítat pouze jikry u druhů, které mají malou produkci jiker (řádově desítky kusů). Vlastní počítání se provádí pomocí destiček nebo lopatek s určitým počtem prohlubní (např. Hirnerova lopatka na počítání jiker, Brandstädterova lopatka na počítání jiker). U spermatu nelze tuto metodu, vzhledem k počtu a velikosti spermií, samostatně využít (Baruš a kol., 1995).

Počítání gamet je ovšem základem pro další metody zjišťování plodnosti. Jedná se zejména o stanovení plodnosti pomocí vážení gamet. Vlastní metoda je založena na tom, že se odebere část gamet o přesné hmotnosti (např. 1 g) a spočítá se množství gamet v daném vzorku. Pro eliminaci negativních vlivů je doporučeno takto spočítat několik vzorků a vypočítat průměr. Následně mohou být vytřené gamety zváženy (nejčastěji od jedné generační ryby) a výpočtem se získá celkový počet gamet. Vážení se využívá převážně u stanovování počtu jiker (Peňáz a kol., 1983).

Další metodou je určování počtu gamet dle objemu. U jiker se postupuje obdobně jako u vážení, jen s tím rozdílem, že se měří objem. Při umělých výtěrech se poté užívají různé objemové měrky na jikry, které často bývají určeny pro konkrétní druhy ryb. Objemová metoda je také nejvhodnější a nejvyužívanější pro stanovení plodnosti u samců. Plodnost samců vypočítáme ze zjištěné koncentrace (počtu) spermií ve spermatu a uvádí se v miliardách na mililitr. Vlastní stanovení koncentrace probíhá pomocí mikroskopu, kdy se počítají naředěné spermie. Pro toto počítání jsou používány různé typy počítacích komůrek, z nichž nejvyužívanější je Bürkerova počítací komůrka (Peňáz a kol., 1983).

U jiker se jejich počet může určovat podle jejich velikosti měřené různými způsoby. Jednou ze starších, ale stále využívanou metodou je používání měřidla se žlábkem ve tvaru V, do kterého se srovnají jikry jedna vedle druhé. Poté se odečte hodnota na stupnici a vydělí se počtem jiker. Tím se získá průměr jedné jikry. Podle tabulkových hodnot (Bayerova tabulka) je možné vyhledat počet jiker daného průměru v 1 litru (Von Bayer, 1908).

Existují i jiné metody, které lze pro toto stanovení použít. Z ekonomického hlediska jsou ale tyto metody nákladnější.

Jako nepřímý ukazatel plodnosti může být použit i gonadosomatický index (GSI). GSI lze vyjádřit jako poměr hmotnosti pohlavních orgánů k tělesné hmotnosti ryby. Vypočítá se podle vzorce:

$$\text{GSI} = \text{hmotnost gonád} / \text{hmotnost těla} \cdot 100$$

GSI se převážně užívá k určení období tření, protože zejména vaječníky samic se rychle zvětšují v období těsně před třením. Zároveň může být pomocí GSI určen optimální věk pro generační ryby (Barber & Blake, 2006).

#### 2.4.4. Faktory ovlivňující plodnost u ryb

Plodnost ryb ovlivňuje řada faktorů. Ty mohou být v základu rozděleny na vnější a vnitřní. Dále jsou poměrně rozdílné vlivy u volně žijících populací a v provozní praxi. Z vnějších vlivů můžeme jako základní označit teplotu vody. Ta má na rozmnožování ryb zásadní vliv a dodržení postupného nárůstu nebo poklesu teploty má zásadní vliv na správné dozrávání pohlavních produktů a tím i na zvyšování plodnosti. V případě výkyvů teplot před výtěrem může dojít k horšímu dozrávání gamet či případně k úplnému zastavení výtěru. Pro některé druhy ryb může mít vliv i zkracující se nebo prodlužující se fotoperioda. Na plodnost má velký vliv i kvalita vodního prostředí. Zejména přítomnost látek ze skupiny PPCP (produkty denní spotřeby a farmaka) výrazně ovlivňuje plodnost ryb (Randák a kol., 2008). V provozní praxi je nejvýznamnějším vnějším vlivem teplota a správná výživa ryb (Dajoz, 1975).

Vnitřním faktorem ovlivňující plodnost je zejména hormonální systém. Správná činnost hormonálního systému a produkce gonádotropních hormonů je zárukou vysoké plodnosti. Vliv na hormonální systém má zejména přítomnost různých cizorodých látek ve vodním prostředí, převážně ze skupiny léčiv (Randák a kol., 2008). V provozní praxi má významný vliv na plodnost i genetika. Výběrem vhodných jedinců, plemen či případně křížením se může v budoucích generacích výrazně ovlivnit plodnost. Dalším z příznivých vlivů je i pokročilé stádium domestikace, kdy jedinci nejsou během chovu a v předvýtěrovém období vystaveny nadměrnému stresu (Pivnička, 1981).

## 2.4.5. Přehled plodností u různých druhů ryb

V Tabulce č. 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty k výpočtu plodnosti různých druhů ryb (Linhart a kol., 2011) pro srovnání s hodnotami zjištěnými v této práci u jesetera malého (Tab. č. 2 a 3).

Tab. č. 1 Průměrné hodnoty hmotnosti ryby ( $\text{kg}^{-1}$ ), objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ) a koncentrace spermií ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) u vybraných druhů ryb pro výpočet plodnosti

Druh ryb	Hmotnost při výtěru ( $\text{kg}^{-1}$ )	Objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ )	Koncentrace spermií ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ )
Jeseter sibiřský ( <i>Acipenser baerii</i> )	5 a více	10 - 100	0,01 - 0,1
Kapr obecný ( <i>Cyprinus Carpio</i> )	1 - 5	5 - 50	15 - 20
Candát obecný ( <i>Sander lucioperca</i> )	1,5 a více	0,5 - 5	20
Okoun říční ( <i>Perca fluviatilis</i> )	0,5 a více	0,5 - 3	25 - 35
Štika obecná ( <i>Esox lucius</i> )	0,5 - 2	0,2 - 3	10 - 30
Lín obecný ( <i>Tinca tinca</i> )	0,25 - 0,5	0,1 - 2	10 - 15
Sumec velký ( <i>Silurus glanis</i> )	4 - 8	5 - 50	0,001 - 1
Amur bílý ( <i>Ctenopharyngodon idella</i> )	2 - 5	5 - 30	2 - 10
Tolstolobec bílý ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> )	2 - 5	5 - 30	2 - 15
Lipan podhorní ( <i>Thymallus thymallus</i> )	0,2 a více	1 - 5	5 - 15
Pstruh obecný ( <i>Salmo trutta</i> )	0,2 a více	2 - 3	15 - 20
Pstruh duhový ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	0,2 a více	2	15 - 25
Síh maréna ( <i>Coregonus maraena</i> )	0,3 a více	0,5 - 5	5 - 12
Síh peled' ( <i>Coregonus peled</i> )	0,3 a více	0,5 - 5	8 - 15

## 2.5. Sperma

Sperma ryb se skládá ze dvou složek, nebuněčné, tj. semenná plazma (spermiální plazma) a buněčné, tj. spermie. Vzhledem připomíná mléčnou tekutinu (Linhart, 1984). U jeseterovitých je to bělavá až mléčně bílá tekutina vodnaté konzistence. Objem spermatu získaného od jednoho mlíčáka jesetera malého se pohybuje v mililitrech (Gela a kol., 2008). Od mlíčáka o hmotnosti 1 kg získáme přibližně do 20 ml ejakulátu o koncentraci spermií  $0,1 \cdot 10^9$  v 1 ml (Linhart a kol., 2010).



### 2.5.1. Semenná plazma

Semenná plazma tvoří většinu spermatu ryb (50 % - 90 %), u jeseterovitých může být obsah vyšší (Linhart, 1984). Spermiaální plazmu produkují Sertoliho buňky. Od ejakulátu teplokrevných živočichů se liší tím, že rybám chybí přídatné pohlavní žlázy (Linhart a kol., 2011). V plazmě se nacházejí jak výživné a ochranné látky (proteiny, lipidy, glycidy, metabolity glykolýzy a Krebsova cyklu), tak i různé kationty ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ). Organické látky ovlivňují kvalitu spermií. Obsah iontů a jejich působení ovlivňuje pohyblivost spermií. V plazmě jsou většinou spermie nepohyblivé. Jako inhibitory motility působí draselné kationty, opačně působí ionty vápníku, hořčíku a sodíku. Semenná plazma jeseterovitých ryb obsahuje vedle tekutiny produkované varlaty i moč (Linhart a kol., 1991). Je to způsobeno tím, že jeseteři nemají vyvinuté samostatné vývody genitálního traktu, vývody varlat jsou spojeny s vývodovým systémem ledvin. Zde dochází ke smíchání spermatu s močí. Moč je hypotonická, tudíž schopná aktivace motility spermií. U jeseterů je kontakt spermií s močí nutný pro iniciaci schopnosti aktivace spermie (Rodina a kol., 2012).

### 2.5.2. Spermie chrupavčitých ryb

Spermie se řadí mezi specializované buňky. Je to pohlavní buňka, malá a pohyblivá, pouhým okem neviditelná. Jediným úkolem spermie v těle je přenos genetické informace od samce – mlíčáka do samičí gamety - jikry (Alavi a kol., 2008). Ultrastruktura spermatu jesetera malého byla zkoumána pomocí rastrovací a transmisní elektronové mikroskopie, která umožnila používat různé způsoby vizualizace různých částí spermie (Příloha, Obr. č. 2). Spermie mají hlavu s výrazným akrozomem, krček (středová část) a jediný bičík. Celý povrch spermie je kryt cytoplazmatickou membránou (Pšenička a kol., 2009). Hlavička spermie obsahuje buněčné jádro, které tvoří haploidní sada chromozomů nesoucí samčí genetickou informaci (Pšenička a kol., 2009). Hlavička se liší v závislosti na druhu velikostí a tvarem. Spermie chrupavčitých ryb jsou opatřeny akrozomem (tvarovaný membránový útvar) (Příloha, Obr. č. 3). Hlavní funkcí akrozómu je vytvoření akrozínového vlákna, které sloužícího ke „vtažení“ jádra spermie mikropylí do jikry (Alavi a kol., 2012). Pšenička (2010) popisuje akrozom jako mechanickou „kotvu“ sloužící spermii při procesu oplození k uchycení na

jikře. Spermie kostnatých ryb akrozom nemají (Ginsburg, 1968). Hlavičky spermií u chrupavčitých ryb jsou vždy protáhlé (Obr. č. 23), velikost je několikanásobně větší než u kostnatých ryb, což je dáno vyšším obsahem DNA v jádře. Kostnaté ryby mají hlavičku kulatou a velmi tenký bičík (Pšenička a kol., 2006), (Obr. č. 25).

Střední část (krček) spojuje hlavičku s bičíkem. Obsahuje mitochondrie, proximální a distální centrioly (Hatef, 2012).

Bičík je pohybovým aparátem spermie, je tvořen osovým válcem zvaným axonema, což je systém dvojic mikrotubulů uspořádaných v systému 9+2. Povrch bičíku je kryt cytoplazmatickou membránou, která u některých druhů vytváří laterální lem. Pohyb bičíku vzniká posouváním se mikrotubulů vůči sobě, tím vzniká typická vlna na bičíku a ta se šíří od hlavičky ke konci bičíku. U chrupavčitých ryb se na bičíku nachází laterální lem, může být jednostranný nebo oboustranný. (Cosson, 1996; Billard, 1969).

Délka spermie jesetera malého je 47,61  $\mu\text{m}$  (akrozom 0,79  $\mu\text{m}$ ; hlavička 3,3  $\mu\text{m}$ ; střední část 0,97  $\mu\text{m}$ ; bičík 42,55  $\mu\text{m}$ ) (Alavi a kol., 2012).

### **2.5.3. Vznik a pohyb spermií**

Spermie jsou tvořeny ve varlatech v semenotvorných kanálcích, ve finální fázi spermiogeneze cysty prasknou a spermie se přesunou do lalůček varlete. Odtud jsou chámovody vypuzovány na povrch urogenitální papily (Linhart a kol., 1984). Spermie se musí vyrovnat s velice odlišným prostředím jakým je sladká voda (Cosson a kol., 1999).

U ryb s vnějším oplozením se spermie uvnitř pohlavních gonád nepohybují. Pohyblivost (motilita) je aktivována až v externím médiu jako je voda nebo aktivační roztok. Hlavní faktory jako osmotický tlak, pH a koncentrace iontů způsobují depolarizaci buněčných membrán a aktivují motilitu spermií (Billard a kol., 1990). Doba pohybu spermií se liší, u kostnatých ryb je krátká, přibližně 15 – 50 sekund (Linhart a kol., 2004), u chrupavčitých je pohyblivost spermií delší, až několik minut (Linhart a kol., 2002). Pohyb se rapidně zvyšuje během krátké doby po aktivaci, největší rychlost je v prvních vteřinách motility (většinou do jedné minuty, u kostnatých ryb během několika vteřin). Pohyb spermií je buď lineární, nelineární nebo kruhový.

Lineární typ pohybu převažuje, nelineární a kruhový se objevuje při nízké pohyblivosti (Alavi a kol., 2008).

Spermie využívají k pohybu jako energetický zdroj ATP (Adenosintrifosfát) z glykolitických a oxidačních procesů, po vyčerpání ATP jsou schopny jeho opětovné syntézy po přesunu do imobilizačního roztoku (Linhart a kol., 1991).

U jesetera malého je doba pohybu spermií 4 – 5 minut (Alavi a kol., 2012). Hlavním aktivačním podnětem je změna koncentrace  $K^+$ , respektive jeho poměru s  $Ca^{2+}$  (Alavi a kol., 2008).

## **2.6. Generační ryby – získání mlíčáků**

U jesetera malého samci (mlíčáci) dospívají ve věku 3 – 5 let (Dubský a kol., 2003). Způsob odlovu ryb z volných vod k získání generačních jedinců se v dnešní době již ke komerčním účelům nepoužívá, pouze v případě zachování druhu a genového typu (Williot a kol., 2001). Dnes se pohlavně dospělé ryby získávají z obsádky chované v intenzivních či extenzivních podmínkách rybích líhní. U jeseterů nelze rozpoznat pohlaví pouhým okem, není u nich pohlavní dimorfismus. Jedinci, kteří dosáhli požadované velikosti a stáří a lze u nich předvídat pohlavní zralost, se musí rozřadit a vizuálním značením odlišit pohlaví. Dodržuje se zavedený zootechnický systém, kde jikernačky mají žlutou ploutevní značku a mlíčáci červenou. V dnešní době se používá i čipové označení. Určení pohlaví se provádí několika způsoby – biopsií tkáně gonád, sonograficky nebo hormonálním profilem krve. Na většině rybích farem se pohlaví určuje pomocí biopsie. Biopsie spočívá v zavedení speciální sondy (trokaru) přes břišní stěnu jedince. Sonda se zavádí dostatečně hluboko a velice opatrně, aby nedošlo k poškození vnitřních orgánů. Šroubovým otočením trokaru se odebere vzorek tkáně. Poté se místo vpichu velice důkladně vydezinfikuje (např. roztok hypermanganu  $1g.l^{-1}$ ). Bezprostředně po odběru se makroskopicky posoudí vzorek tkáně a zjistí se, zda se jedná o jikernačku (přítomnost jiker), mlíčáka (přítomnost tkáně z testes) nebo o jedince, který nemá ještě vyvinuté pohlavní orgány (přítomnost tukové tkáně) (Gela a kol., 2008).

### **2.6.1. Řízená reprodukce**

Řízená reprodukce spočívá ve výběru vhodných generačních ryb na výtěr, využívá kontrolovaných podmínek, není závislá na počasí, je náročná na kvalitu vody, technologické prvky, znalosti a zkušenosti chovatele. Výživa generačních ryb by se měla lišit od výživy tržní ryby, protože vyvážený poměr proteinů, tuků a vitamínů zajistí produkci kvalitních pohlavních buněk. Kvalitní výživa se projeví v úspěšné reprodukci a dlouhověkosti generačních ryb. Příprava ryb k samotnému výtěru spočívá v přemístění do manipulačních nádrží (zamezení poranění), úpravě vnějších podmínek jako je řízení teplotního režimu vody a světelných podmínek a hormonální stimulaci (Musil a Kouřil, 2006; Prokeš a kol, 2014).

#### ***2.6.1.1. Teplotní a hormonální stimulace***

Vybraní samci – mlíčáci jsou přemístěni do předem připravených bazénů, kde je postupným ohříváním vody s maximálním denním zvýšením o 3 °C zajištěna finální teplota na 14 – 15 °C. Tato teplota se udržuje po dobu 5 až 7 dní, pokud počáteční teplota vody byla kolem 10 °C před plánovanou hormonální stimulací ryb. V případě, že teplota byla nižší, temperace se prodlouží až na 14 dní (Gela a kol., 2008). Pokud by ryby byly ponechány ve vodě o teplotě 15 °C déle jak 10 dnů a teplota se i nadále zvyšovala, došlo by k přirozené stimulaci hypotalamo-hypofyzárních drah a k produkci hypofyzárních gonadotropinů. Tyto faktory jsou spouštěčem spermiace a pro chovatele to znamená, že ryby by se vytíraly v nepotřebnou dobu, tedy mimo den naplánovaného výtěru. Následná hormonální stimulace již v tomto případě nemá význam (Rodina a kol., 2012).

Ke stimulaci mlíčáků se používá suspenze kapří hypofýzy a fyziologického roztoku v množství 4 mg.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti ryby. Aplikuje se formou jednorázové vnitrosvalové injekce. Při teplotě vody 14 – 15 °C se spermiace dostaví přibližně 36 hodin od injekce (Gela a kol., 2008). Lze použít i jiné hormonální látky jako pravou jeseteří hypofýzu, Kobarelin, Ovopel aj. Při použití hormonálních látek obsahující GnRH analog se doba od injekce ke spermiaci zkracuje a nastává již po dvaceti hodinách (Rzemieniecki a kol., 2004).

Spermiace je hormonálně kontrolovaný proces, při kterém dochází k dozrání spermií. Spermie jsou uvolňovány z epitelu lalůček varlat a odtud putují do vývodového systému gonád. Následně jsou při výtěru nebo odběru spermatu uvolňovány na povrch urogenitální papily. Spermiace probíhá ve třech fázích v průběhu tří dnů. Jde o nástup, vrchol a útlum exkreční aktivity. Po dvanácti hodinách od hormonální stimulace lze již zaznamenat u jesetera malého spermiaci, 2. den nastává vrchol a 3. den již produkce spermatu klesá (Rodina a kol., 2012).

#### ***2.6.1.2. Výtěr mlíčáků, odběr a krátkodobé uchování spermatu***

Anestezie se u jesetera malého většinou nepoužívá. Je to z důvodu, že v počáteční fázi anestezie jsou ryby více aktivní a při prudších pohybech mlíčáků dochází k úniku spermatu do vody (Rodina a kol., 2012). Při odlovení samce z bazénu uchopením za prsní ploutve a ocasní násadec, se ucpě palcem urogenitální papila, aby nedošlo k samovolnému odtoku spermatu. Mlíčák se přenesse na připravený výtěrový stůl, položí se hřbetem směrem dolů a osuší se místo pohlavního otvoru, aby nedošlo při výtěru spermatu k jeho kontaminaci vodou. K odběru spermatu se u jesetera malého používá suchá kanyla o průměru 5 mm a délce alespoň 20 cm, její konec je kónicky seříznutý pro šetrnější zavádění. Po zavedení kanyly do chámovodu se její volný konec vloží do suchého plastového kontejneru o objemu 50 – 100 ml, nádobka se drží pod úrovní těla ryby, aby mohlo sperma samovolně vytékat. Nádobky se plní do 1/3 svého objemu. Kontejnery s odebraným spermatem se uzavřou, označí se identifikačním kódem mlíčáka lihovým fixem a ihned se uloží do polystyrénového chladicího termoboxu s ledem (0 – 2 °C) mimo sluneční záření. Musí se dávat pozor, aby sperma nezmrzlo nebo nádobka neležela přímo na přemrzlém ledu. Zjištěné údaje (identifikační číslo a množství odebraného spermatu v ml) se zapíší do výtěrového listu. V aerobních podmínkách v chladu a temnu, při teplotě 0 – 4 °C, může být sperma v uzavřených kontejnerech v horizontální poloze uchováno až po dobu 72 hodin (Gela a kol., 2008).

## 2.7. Hodnocení spermatu

Dříve než se při výtěru odebraným spermatem oplodní připravené jikry, musí projít sperma kontrolou kvality. Sperma se hodnotí makroskopicky, mikroskopicky nebo se stanoví parametry, které ovlivňují kvalitu.

### 2.7.1. Makroskopické

Makroskopické hodnocení je subjektivní posouzení odebraného spermatu. Posuzuje se objem, hustota a konzistence, barva a přímíseniny a aktivita spermií (Linhart a kol., 2011).

Objem získaného spermatu se uvádí v ml. Množství je dáno druhem, velikostí, stářím a zdravotním stavem dané ryby, popřípadě hormonální stimulací. Množství spermatu v ml se zaznamenává na výtěrový list, kde se uvádí i aktuální váha vytíraného jedince a jeho identifikační číslo.

Hustota a konzistence se u ryb liší druh od druhu. Sperma je buď řidší, nebo hustší. Podle odchylky od normálu se hustota a konzistence dělí do pěti stupňů:

- VH – velmi husté (smetanovité)
- H – husté (slabě smetanovité)
- Ř – řídké (mléčné)
- VŘ – velmi řídké (vodnaté s mléčným zákalem)
- O – oligospermní (vodové)

Barva spermatu bývá v závislosti na druhu různá. Kvalitní čerstvě odebrané sperma bývá bělavé, bílé až lehce nažloutlé barvy. Růžová barva značí kontaminaci krví, žlutozelená nebo lehce nahnědlá kontaminaci spermatu výkaly. Pokud sperma gelovává nebo se sráží, je to známka kontaminace močí, slizem nebo vodou. Kontaminované sperma lze použít po prověření motility spermií k osemenění jiker, ale nehodí se ke krátkodobému uchování (Linhart a kol., 2011).

Aktivita spermií se odhaduje tzv. „kapkovým testem“. Test spočívá v tom, že se do Petriho misky, která je položena na tmavé podložce, nalije aktivační voda do výše 1 cm

vodního sloupce. Pomocí injekční stříkačky nebo kapátka se doprostřed misky kápne kapka zkoumaného spermatu. Sperma se buď rozprostře anebo zůstane shlukeno v kapce. Pokud se vytváří kolem kapky mléčný závoj, jedná se o sperma s aktivními spermii. Jestliže se ale závoj nevytváří a sperma zůstane shluknuto v kapce, znamená to, že obsahuje spermie se špatnou motilitou (Linhart a kol., 2011).

### **2.7.2. Mikroskopické**

Mikroskopické hodnocení se používá především k posouzení pohyblivosti spermií a zjištění přesné koncentrace spermií ve spermatu. Z koncentrace se dále vypočítává pracovní plodnost mlíčáků v provozních podmínkách rybích líhní. K tomuto pozorování postačuje laboratorní či školní mikroskop pro mikroskopování v průchozím světle. Objektivy by měly mít zvětšení 20 – 40 krát, při použití okulárů 10 krát. Vhodné jsou mikroskopy, které mají zabudované elektrické osvětlení (odpadá problém s nastavením světla). Ještě komfortnější pozorování umožňuje mikroskop pro mikroskopii ve fázovém kontrastu nebo tmavém poli (Linhart a kol., 2011).

#### ***2.7.2.1. Posuzování pohyblivosti spermií***

Pozorování nativního preparátu s aktivovanými spermii umožňuje odhad procenta pohyblivosti spermií. Tento odhad se provádí vždy na začátku pozorování, tj. 10 - 15 sekund po aktivaci spermií. Cílem je vyřadit nevyhovující sperma a vhodné vzorky rozdělit do skupin podle konkrétního způsobu použití. Sperma, které se používá ihned k oplození, by mělo mít alespoň 50% pohyblivost spermií (pokud se vykompenzuje snížená pohyblivost větším objemem spermatu). Pro potřeby kryokonzervace (zmrazování) se používá sperma s minimální pohyblivostí 80 % a více. Pomocným parametrem je celková doba pohybu spermií, která se měří od aktivace až po zastavení dopředného pohybu hlaviček spermií. K měření se používají stopky (Linhart a kol., 2011).

Motilita spermií se pozoruje bez použití krycího sklíčka. Preparát je pouze na podložním skle. V rozprostřené kapce vody či aktivčního roztoku o ploše 1 – 2 cm<sup>2</sup> se

aktivuje malé množství spermatu, které se přenese pomocí špičky injekční jehly. Poté se špička jehly otře do sucha a obsah na sklíčku se špičkou jehly zamíchá. Po prostření celé hloubky kapky (spermie se cca do 10 sekund od kontaktu s aktivačním činidlem rozvrství a pohybují se při povrchu nebo na dně kapky) se odhaduje procento pohyblivosti.

0 % - nepohyblivé spermie

20 % - malé množství pohyblivých spermií

40 % - větší množství pohyblivých spermií, ale méně než polovina

60 % - větší množství pohyblivých spermií, více než polovina

80 % - takřka všechny spermie se pohybují, ne však všechny

100 % - všechny body se pohybují

Při hodnocení motility spermií pod mikroskopem musí být dodrženy metodické zásady:

- ✓ použití stejného zvětšení mikroskopu
- ✓ použití stejného aktivačního činidla
- ✓ použití stejného druhu preparační jehly
- ✓ dávkování stejného množství spermatu
- ✓ procentuelní odhad provádět u každého vzorku minimálně dvakrát, vždy po stejné době od aktivace
- ✓ sperma hodnotí vždy jen jedna osoba, pro lepší rozhodnutí může konzultovat své hodnocení s dalším hodnotitelem (Linhart a kol., 2011)

Při pozorování a odhadu procenta pohyblivosti spermií může docházet k některým problémům. Extrémní hodnoty pH nebo nízký obsah rozpuštěných solí ve vodě výrazně zkracují dobu pohybu. Pokud je po kontrole aktivační voda v pořádku, bývá zkrácená doba pohybu spermií odrazem kvality spermatu, např. sperma mohlo být částečně aktivováno již při odběru. Jestliže spermie vykazují výrazně delší dobu pohybu, je to většinou způsobeno tím, že v kapce aktivační vody je příliš velké množství spermatu, které se aktivuje postupně a tím dochází k prodloužení doby pohyblivosti. Při extrémním pH aktivační vody nebo použití nevhodného aktivačního roztoku může



docházet ke shlukování spermií tzv. aglutinaci. Takovéto sperma se k oplozování nepoužívá. Dále může docházet k přichycování hlaviček spermií k podložnímu sklíčku. Tento jev je pozorován jako prudké zastavení hlaviček spermií na podložním skle. Lepivost je dána nečistotami na povrchu sklíčka. Bezpečně lepidlo odstraníme přidáním 0,1 % BSA (bovinní sérový albumín) do aktivačního činidla, částečně se ji zbavíme vyleštěním podložního skla suchým papírovým kapesníkem. Spermie jeseterovitých ryb se při vysokém pH aktivační vody a vysoké hladině vápníku vždy přilepí. Je to dáno tím, že dochází k aktivaci akrozómu a spermie se přilepí na podložní sklíčko akrozinovým filamentem (Linhart a kol., 2011).

### ***2.7.2.2. Zjišťování koncentrace spermií***

Zjišťování koncentrace spermií ve spermatu slouží dále k výpočtu plodnosti ryb. Koncentrace se určuje pod mikroskopem počítáním naředěných spermií v počítacích komůrkách různých typů a následným výpočtem. Uvádí se v miliardách na mililitr. U nás se nejčastěji využívá Bürkerova počítací komůrka (Příloha, Obr. č. 4). Na začátku každého zjišťování musí být sperma nejdříve naředěno v takovém poměru, aby na každý čtverec počítací komůrky připadalo 3 – 10 spermií. Např. u kapra se používá ředění 10 000 krát, u jeseterů 500 – 1000 krát. K ředění se používá fyziologický nebo imobilizační roztok pro daný druh spermií a provádí se pomocí mikropipety nebo stříkačky o objemu 1 ml. Po naředění spermatu ve správném poměru se přistupuje k samotnému počítání (Linhart a kol., 2011).

Příprava preparátu spočívá v tom, že se přiloží krycí sklíčko na vyčištěnou počítací komůrku, připevní se pružnými raménky a položí se pod mikroskop. Mikropipetou je k hraně krycího sklíčka kápnuto asi 10  $\mu$ l naředěného spermatu tak, aby byl vzorek nasán kapilaritou do komůrky. Spermie se nechají ve vzorku 5 – 10 minut usadit a poté následuje jejich počítání. Počítány jsou jen spermie ve vyznačených dvaceti čtvercích na rastru komůrky (Příloha, Obr. č. 5) a to ty, které se nedotýkají hranic čtverce a spermie které se zevnitř dotýkají dvou hranic čtverce. Ze zjištěného počtu je vypočten průměr na 1 čtverec (Linhart a kol., 2011).

Vzorec pro výpočet koncentrace:

**průměrný počet v 1 čtverci . ředění . 0,00025**

Pokud je známa hmotnost mlíčáků, objem odebraného spermatu a koncentrace spermií v něm, může být spočítán relativní objem spermatu a relativní počet spermií na 1 kg hmotnosti mlíčáka a absolutní počet spermií od 1 mlíčáka. Tyto parametry vyjadřují reprodukční schopnost generačních mlíčáků (Linhart a kol., 2011). Znalost těchto ukazatelů je pro rybí líhně důležitá při plánování produkce larev a plůdku v akvakultuře (Kouřil a kol., 2002).

## **2.8. Použití odebraného spermatu**

Po kontrole kvality spermatu, která se provádí bezprostředně po odběru, je sperma použito k oplození jiker získaných při výtěru anebo ke zmrazování. Přímé oplození se provádí většinou ve stejný den, kdy bylo sperma získáno (Rodina a kol., 2012). Lze ho však i krátkodobě uchovat za podmínek uváděných Linhartem a kol. (2011) viz. kapitola 2.6.1.2 Výtěr mlíčáků, odběr a krátkodobé uchování spermatu.

Kryokonzervace je druhým způsobem využití odebraného spermatu. Jde o biotechnickou metodu, která se používá v akvakultuře. Spočívá v hlubokém zmrazování spermií a jejich uchování v kapalném dusíku při -196 °C (Stoss, 1983; Rana, 1995). Takto uchované sperma může být např. použito pro uchování genetických rezerv, pro výměnu spermatu mezi líhněmi u nás i ve světě, při opakovaném výtěru s využitím daných mlíčáků, pro produkci referenční chovatelské zásoby, při mezidruhovém křížení atd. (Gwo, 2000).

### **3. Materiál a metodika**

V této práci byla počítána koncentrace spermií ve spermatu jesetera malého a následně počítána plodnost jednotlivých generačních mlíčáků. Výsledky byly porovnány mezi jednotlivými chovy a s vybranými druhy sladkovodních ryb.

Na začátku byly vybrány vhodné ryby k výtěru, následoval umělý výtěr, kontrola získaného spermatu a odebrání vzorků pro laboratorní zkoumání. V laboratoři se zjišťovala koncentrace spermií ve vzorku spermatu. Ze zjištěné koncentrace se poté vypočítala plodnost jednotlivých ryb.

#### **3.1. Původ generačních mlíčáků a jejich věk**

Generační mlíčáci pocházeli z uzavřeného chovu pokusného zařízení Genetického rybářského centra FROV JU ve Vodňanech (Příloha, Obr. č. 6) a z rybí líhně Rybníkářství Pohořelice, a.s. (Příloha, Obr. č. 7). Pomocí biopsie gonád bylo zjištěno, zda jsou ryby připraveny k výtěru. Mlíčáci byli před plánovaným výtěrem umístěni do připravených bazénů na rybích líhních. Pro zkoumání byly použity ryby z několika výtěrů různého data. Ryby byly ve věku 10 – 14 let.

#### **3.2. Výtěr mlíčáků**

Samci byli přeneseni 14 dnů před plánovaným výtěrem ze zemních rybníčků do připravených bazénů v rybí líhni. Byli umístěni odděleně od samic. V těchto bazénech byla postupnou temperací vody dosažena teplota vody 15 °C. Tato teplota byla udržována po dobu 6 dnů a poté následovala hormonální stimulace.

Mlíčáci byli stimulováni jednorázovou vnitrosvalovou injekcí suspenze kapří hypofýzy a fyziologického roztoku v dávce 4 mg.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti ryby. Injekce se indikovala do hřbetní svaloviny 36 hodin před plánovaným výtěrem.

Ve Vodňanech se na rybí líhni nepoužívalo anestetikum, zatímco v Pohořelicích bylo použito anestézie ve formě hřebíčkové lázně (Příloha, Obr. č. 8 a 9). Výtěr

spočíval v odlovení samce z bazénu uchopením za prsní ploutve a ocasní násadec. Palcem se ucpala urogenitální papila, aby nedošlo k samovolnému odtoku spermatu (Příloha, Obr. č. 10). Mlíčák byl přenesen na výtěrový stůl, položil se hřbetem dolů (Příloha, Obr. č. 11). Suchým hadrem bylo osušeno místo pohlavního otvoru, aby nedošlo při výtěru spermatu k jeho kontaminaci. K odběru spermatu byla použita suchá kanyla o průměru 5 mm, délce 20 cm s kónicky seříznutým koncem (Příloha, Obr. č. 12). Po zavedení kanyly do chámovodu byl druhý konec vložen do suchého plastového kontejneru o objemu 150 ml. Nádobka byla držena pod úroveň těla ryby, aby sperma samovolně vytékalo (Příloha, Obr. č. 13). Plnila se do 1/3 svého objemu. V Pohořelicích se sperma odebíralo pomocí odsávačky (Příloha, Obr. č. 14). Všechny kontejnery s odebraným spermatem byly uzavřeny, označeny identifikačním kódem mlíčáka a uloženy v horizontální poloze do chladicího boxu s šupinkovým ledem (Příloha, Obr. č. 15). Zjištěné údaje (identifikační číslo, aktuální váha a množství odebraného spermatu v ml) byly zapsány do výtěrového listu (Příloha, Obr. č. 16 a 17).

### **3.3. Nastavení mikroskopu a příprava vzorků**

Po výtěru byl chladicí box s odebraným spermatem přenesen do laboratoře, kde se zjišťovala pohyblivost spermií a následná vhodnost použití daného spermatu k oplození.

K počítání koncentrace byl z každého označeného kontejneru odebrán do mikrozkuhavky eppendorf 1 ml spermatu. Poté následovalo nastavení mikroskopu, na kterém se v Bürkerově komůrce zjišťoval počet spermií ve spermatu.

Mikroskop značky Olympus BH-2 byl umístěn na stabilní stůl v laboratoři tak, aby se zabránilo přímému slunečnímu záření (Příloha, Obr. č. 18). Zkontrolovala se kompletnost mikroskopu a zapnulo se elektrické osvětlení. Nastavil se objektiv 20 krát s okulárem 10 krát. Připravila se Bürkerova počítací komůrka, která byla vyčištěna suchým papírovým kapesníčkem.

K ředění byly použity mikropipety o obsahu 1000 a 10  $\mu$ l (Příloha, Obr. č. 19). Sperma bylo naředěno 1000 krát. Do 0,9% roztoku NaCl bylo přidáno 10 mmol KCl (k zabránění pohybu spermií). Mikropipetou o obsahu 1000  $\mu$ l bylo napipetováno 990  $\mu$ l fyziologického roztoku s KCl a vstříknuto do zkuhavky. Poté mikropipetou o obsahu

10  $\mu\text{l}$  bylo napipetováno 10  $\mu\text{l}$  spermatu a přidáno do fyziologického roztoku. Poté byl obsah zkumavky důkladně protřepán na třepače. Z tohoto ředění se provedlo druhé ředění. Mikropipetou o obsahu 1000  $\mu\text{l}$  bylo napipetováno 100  $\mu\text{l}$  předředěného spermatu a přidáno do 900  $\mu\text{l}$  fyziologického roztoku. Opět byl obsah zkumavky důkladně protřepán na třepače.

### **3.4. Zjišťování koncentrace**

Na vyčištěnou počítací komůrku bylo položeno krycí sklíčko, které bylo upevněno pružnými raménky. Pomocí mikropipety o obsahu 10  $\mu\text{l}$  bylo k hraně krycího sklíčka kápnuto naředěné sperma tak, že se vzorek nasál kapilaritou do komůrky. Vzorek se nechal cca 8 minut odstát, aby se spermie usadily. Poté se Bürkerova komůrka vložila pod mikroskop a počítaly se spermie ve vyznačených čtvercích rastru. Počítaly se jen spermie uvnitř čtverce, které se nedotýkaly hranic čtverce a spermie, které se zevnitř dotýkaly dvou sousedících hranic (např. levé a dolní strany čtverce). Takto byly spočítány všechny vyznačené čtverce na rastru Bürkerovy počítací komůrky, výsledky byly zapsány do tabulky. Ze získaných hodnot byl vypočítán průměrný počet spermií v 1 čtverci.

Ze znalosti veličin, jako je hmotnost ryby, objem odebraného spermatu od daného jedince a koncentrace spermií v něm, byla dále vypočítána plodnost jednotlivých mlíčáků.

### **3.5. Metody matematických a statistických výpočtů**

Všechna data byla statisticky zpracována. Z každého počítání byl vyhodnocen počet spermií na 1 kg mlíčáka, objem spermatu na 1 kg mlíčáka a celkový počet spermií od daného mlíčáka. U jednotlivých sledovaných skupin i u ryb z obou chovů dohromady byly stanoveny průměrné hodnoty, variační rozpětí, směrodatná odchylka a variační koeficient. Variační koeficient je poměr směrodatné odchylky a aritmetického průměru, který určuje přesnost výsledku a uvádí se v %. Souvislost mezi parametry byla zjišťována pomocí statistické funkce Korelace, kde míra korelace je od -1 až +1, míru

korelace vyjadřuje korelační koeficient. Záporná hodnota blíží se -1 vyjadřuje silnou nepřímou závislost, hodnota kolem nuly nevyovídá o skoro žádné závislosti a hodnota kladná, blíží se +1, vyjadřuje silnou přímou závislost. Dále byla testována normalita dat a homogenita rozptylů. Předpoklad normality dat byl otestován pomocí Chí-kvadrát testu a předpoklad homogenity rozptylů byl testován pomocí F-testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Jestliže byly oba dva předpoklady splněny, byl k dalšímu testování rozdílu mezi populacemi použit T-test na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Pokud nebyl splněn jeden z předpokladů, byl k testování použit neparametrický Kolmogorov-Smirnovův test.

Statistické výpočty byly provedeny za použití programu Statistika 10.1

## 4. Výsledky

Základní údaje (hmotnost ryby a objem spermatu) pro výpočet plodnosti u jesetera malého byly získány při umělém výtěru a následně byla vypočítána koncentrace ze vzorku spermatu. Údaje jsou ze dvou chovů, a to z pokusného zařízení Genetického rybářského centra FROV JU ve Vodňanech a z rybí líhně Rybníkářství Pohořelice, a.s. (dále v textu jen Vodňany, Pohořelice) (Příloha, Tab. č. 2 a 3).

Ze zjištěné koncentrace u jednotlivých mlíčáků byl vypočítán počet spermií na 1 kg mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ), objem spermatu na 1 kg mlíčáka ( $\text{ml}^{-1}$ ) a celkový počet spermií od daného mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) (Příloha, Tab. č. 4. a 5).

V Tabulce č. 6 a 7 jsou uvedeny zjištěné a vypočítané průměrné hodnoty, variační rozpětí, směrodatná odchylka a variační koeficient zjišťovaných veličin od generačních mlíčáků z rybí líhně Vodňany a Pohořelice. Variační koeficient nám udává přesnost výsledků.

Tab. č. 6 Hodnoty daných veličin od mlíčáků z rybí líhně Vodňany

	<b>Průměr</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>Variační koeficient</b>
<b>Hmotnost ryby (kg<sup>-1</sup>)</b>	1,24	0,6	1,8	0,278	22,4 %
<b>Objem spermatu (ml<sup>-1</sup>)</b>	22,25	1	65,000	18,218	81,8 %
<b>Koncentrace spermií (.10<sup>9</sup>.ml<sup>-1</sup>)</b>	1,169	0,034	3,188	0,863	73,8 %
<b>Počet spermií na 1 kg mlíčáka (.10<sup>9</sup>)</b>	25,437	0,04	94,093	25,709	101 %
<b>Objem spermatu na 1 kg mlíčáka (ml<sup>-1</sup>)</b>	18,185	0,714	50,000	13,643	75 %
<b>Celkový počet spermií od mlíčáka (.10<sup>9</sup>)</b>	30,456	0,056	119,498	31,494	103 %

Tab. č. 7 Hodnoty daných veličin od mlíčáků z rybí líhně Pohořelice

	<b>Průměr</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>Variační koeficient</b>
<b>Hmotnost ryby (kg<sup>-1</sup>)</b>	1,57	1,043	2,439	0,378	24 %
<b>Objem spermatu (ml<sup>-1</sup>)</b>	16,62	5,3	34,600	7,608	45,7 %
<b>Koncentrace spermií (.10<sup>9</sup>.ml<sup>-1</sup>)</b>	1,721	0,813	2,969	0,615	35,7 %
<b>Počet spermií na 1 kg mlíčáka (.10<sup>9</sup>)</b>	18,067	5,702	57,390	10,852	59,9 %
<b>Objem spermatu na 1 kg mlíčáka (ml<sup>-1</sup>)</b>	10,889	3,359	24,487	5,051	46,3 %
<b>Celkový počet spermií od mlíčáka (.10<sup>9</sup>)</b>	27,452	6,5	81,092	15,191	55,3 %

V Tabulce č. 8 jsou uvedeny zjištěné a vypočítané průměrné hodnoty, variační rozpětí, směrodatná odchylka a variační koeficient zjišťovaných veličin od 49 kusů samců jesetera malého z obou chovů dohromady.

Tab. č. 8 Hodnoty daných veličin od 49 kusů samců jesetera malého z obou chovů dohromady

	Průměr	Min	Max	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
Hmotnost ryby ( $\text{kg}^{-1}$ )	1,36	0,6	2,439	0,359	26,3 %
Objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ )	20,01	1	65,000	15,270	76,3 %
Koncentrace spermií ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ )	1,383	0,034	3,188	0,821	59,3 %
Počet spermií na 1 kg mlíčka ( $\cdot 10^9$ )	22,579	0,04	94,093	21,517	95,2 %
Objem spermatu na 1 kg mlíčka ( $\text{ml}^{-1}$ )	15,356	0,714	50,000	11,682	76 %
Celkový počet spermií od mlíčka ( $\cdot 10^9$ )	29,291	0,056	119,498	26,436	90,2 %

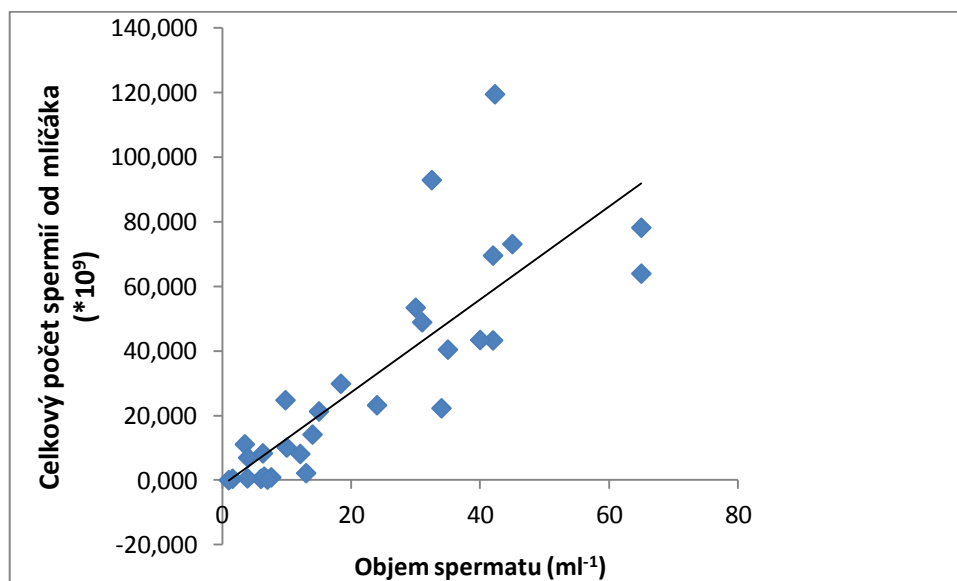
Pro posouzení vzájemného vztahu, objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ) na hmotnosti ryby ( $\text{kg}^{-1}$ ), celkového počtu spermií od mlíčka ( $\cdot 10^9$ ) na objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ), celkovém počtu spermií od mlíčka ( $\cdot 10^9$ ) na hmotnosti ryby ( $\text{kg}^{-1}$ ), byl nejdříve vypočítán korelační koeficient, který určil míru závislosti daných parametrů (Tab. č. 9).

Tab. č. 9 Hodnoty korelačního koeficientu a míra vzájemné závislosti daných veličin v jednotlivých chovech a celkovém souhrnu

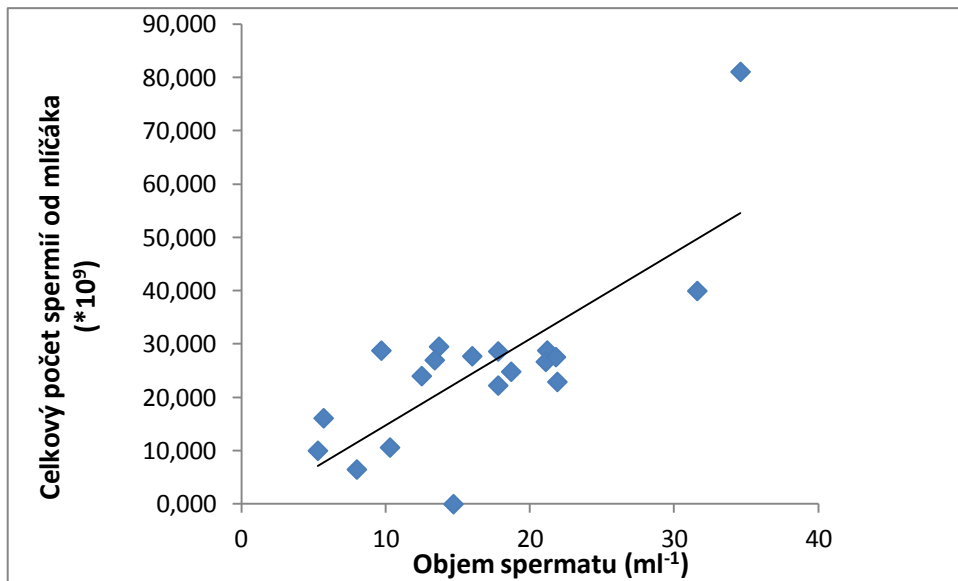
Závislost veličin	Voňany	Pohořelice	celkem
Objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ) - Hmotnost ryby ( $\text{kg}^{-1}$ )	0,178748453 skoro žádná závislost	0,258167242 skoro žádná závislost	0,07261504 žádná závislost
Celkový počet spermií od mlíčka ( $\cdot 10^9$ ) - Objem spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ )	0,830273927 závislost velká přímá	0,778165819 závislost velká přímá	0,81882996 závislost velká přímá
Celkový počet spermií od mlíčka ( $\cdot 10^9$ ) - Hmotnost ryby ( $\text{kg}^{-1}$ )	0,036720359 žádná závislost	0,123729134 skoro žádná závislost	0,02480607 žádná závislost



K vyjádření průkaznosti v % bylo třeba zjistit, podle počtu zkoumaných ryb v jednotlivých chovech, jakou musí mít daný korelační koeficient procentuelní hodnotu, aby pravděpodobnost závislosti byla 95 %. Ve Vodňanech bylo analyzováno 30 kusů mlíčáků, tudíž jsme potřebovali alespoň 36,1% korelační koeficient, v Pohořelicích bylo analyzováno 19 kusů mlíčáků a potřeba byl korelační koeficient 45,5 %. V celkovém souhrnu bylo analyzováno 49 kusů mlíčáků s potřebným koeficientem korelace 27,8 %. U závislosti objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ) na hmotnosti ryby ( $\text{kg}^{-1}$ ) nebyla prokázána skoro žádná závislost ani v jednom chovu. Přímá závislost celkového počtu spermií od mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) na objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ) byla prokázána ve Vodňanech i Pohořelicích (Graf č. 1 a 2). Ve Vodňanech byl korelační koeficient 83 %, v Pohořelicích 77 % a při celkovém zhodnocení činil korelační koeficient 81 %. Ve všech třech případech přesáhla hodnota korelačního koeficientu stanovený potřebný limit. Závislost celkového počtu spermií od mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) na hmotnosti ryby ( $\text{kg}^{-1}$ ) nebyla prokázána v žádném z chovů.



Graf č. 1 Přímá závislost celkového počtu spermií od mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) na objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ), Vodňany



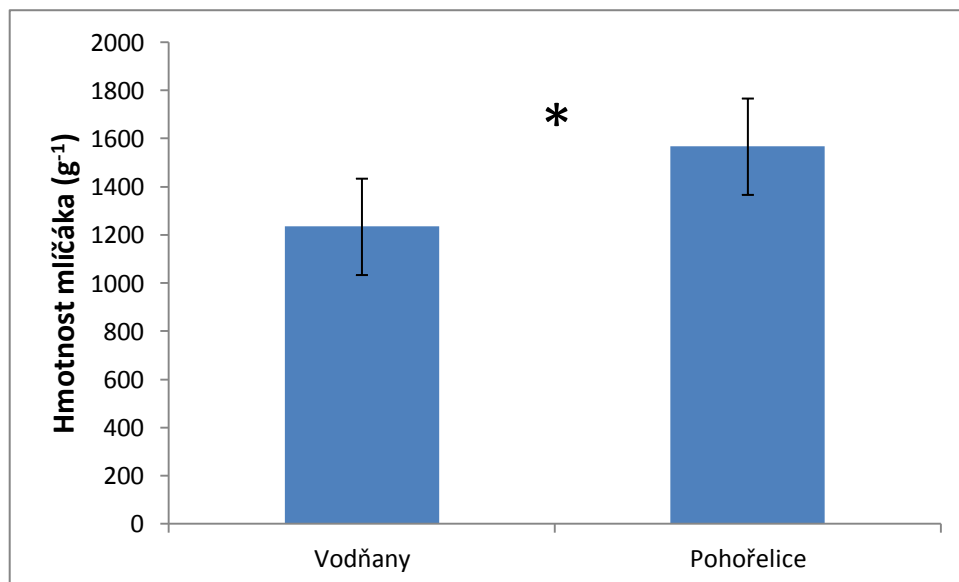
Graf č. 2 Přímá závislost celkového počtu spermií od mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) na objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ), Pohořelice

Statistická průkaznost byla zjištěna u zkoumaných veličin – hmotnosti ( $\text{kg}^{-1}$ ), objemu spermatu na  $1 \text{ kg}^{-1}$  mlíčáka ( $\text{ml}^{-1}$ ) a koncentrace spermií ve spermatu ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ). K testování další závislosti byl použit T-test na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

U ostatních zkoumaných veličin - objemu spermatu ( $\text{ml}^{-1}$ ), počtu spermií na  $1 \text{ kg}$  mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) a celkového počtu spermií na mlíčáka ( $\cdot 10^9$ ) nebyla zjištěna statistická průkaznost. K dalšímu testování byl použit neparametrický Kolmogorov-Smirnovův test.

#### 4.1. Hmotnost mlíčáků

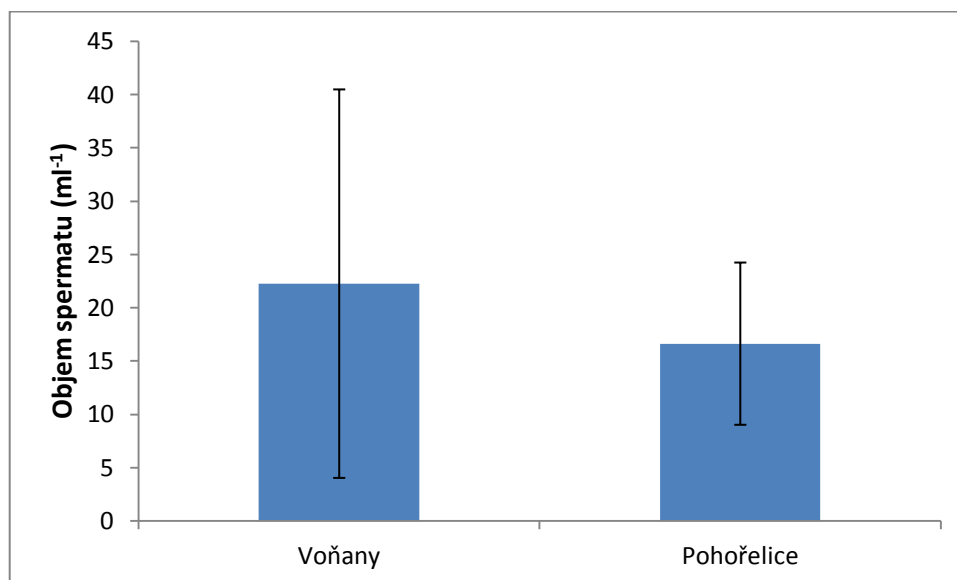
Nejnižší naměřená hmotnost byla zjištěna u samce ve Vodňanech ( $0,6 \text{ kg}^{-1}$ ). Průměrná hmotnost ve Vodňanech byla  $1,24 \text{ kg}^{-1}$ . Naopak nejvyšší naměřená hmotnost byla u mlíčáka z Pohořelic ( $2,439 \text{ kg}^{-1}$ ), kde průměrná hodnota hmotnosti byla  $1,57 \text{ kg}^{-1}$ . Ryby pocházející z líhně v Pohořelicích byly celkově větší a těžší. Mezi skupinami analyzovaných jedinců z chovů ve Vodňanech a Pohořelicích byl zjištěn statisticky významný rozdíl naměřených hodnot hmotnosti  $p < 0,001$ . Naměřené hodnoty hmotnosti jsou znázorněny v Grafu č. 3.



Graf č. 3 Průměrné hodnoty hmotnosti ( $\text{g}^{-1}$ ) analyzovaných mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic, \* udává statisticky signifikantní rozdíl  $p < 0,05$

## 4.2. Objem spermatu

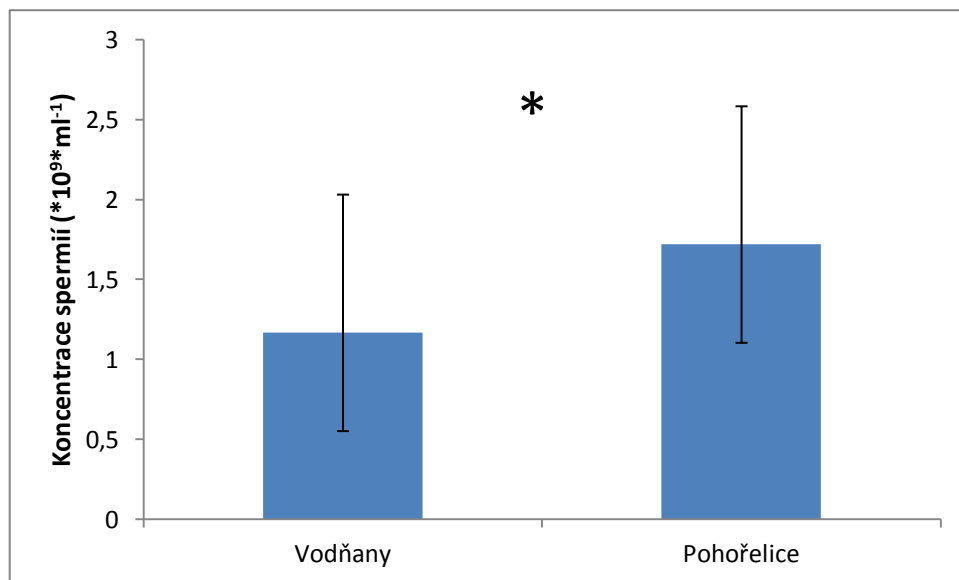
Odebraný objem spermatu se velice lišil, bez ohledu na velikost nebo váhu daného jedince. Nejnižší hodnota objemu získaného spermatu byla  $1 \text{ ml}^{-1}$  u mlíčáka ve Vodňanech, kde byla naměřena i nejvyšší hodnota  $65 \text{ ml}^{-1}$  spermatu od jednoho mlíčáka. Ve Vodňanech byla zjištěna průměrná hodnota objemu odebraného spermatu  $22,25 \text{ ml}^{-1}$  a v Pohořelicích  $16,62 \text{ ml}^{-1}$ . Mezi jednotlivými chovy nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl zjištěných objemových hodnot odebraného spermatu. Naměřené hodnoty jsou znázorněny v Grafu č. 4.



Graf č.4 Průměrné hodnoty objemu ( $\text{ml}^{-1}$ ) odebraného spermatu od analyzovaných mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic

### 4.3. Koncentrace spermií ve spermatu

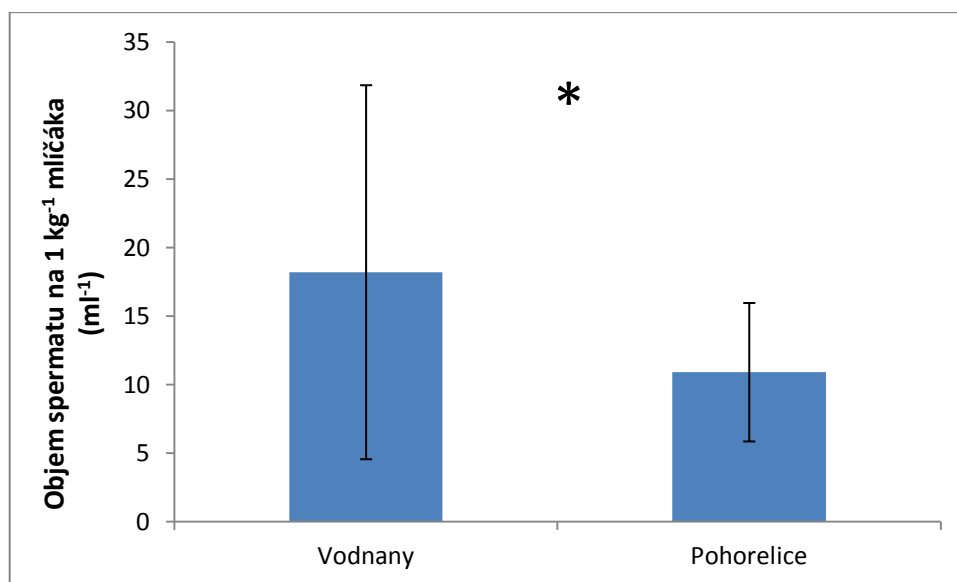
Koncentrace spermií ve spermatu uváděná v miliardách na mililitr byla rozdílná. Nejnižší i nejvyšší koncentrace byla zjištěna u mlíčáků ve Vodňanech, kde nejnižší hodnota byla  $0,034 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$  a nejvyšší  $3,188 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Průměrné hodnoty z obou chovů byly ve Vodňanech  $1,169 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$  a v Pohořelicích  $1,721 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ . Mezi skupinami analyzovaných jedinců z chovů ve Vodňanech a Pohořelicích byl zjištěn statisticky významný rozdíl vypočítaných hodnot koncentrace ( $p < 0,02$ ). Naměřené hodnoty hmotnosti jsou znázorněny v Grafu č. 5.



Graf č.5 Průměrné hodnoty koncentrace spermií ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) ve spermatu mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic, \* udává statisticky signifikantní rozdíl  $p < 0,05$

#### 4.4. Objem spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka

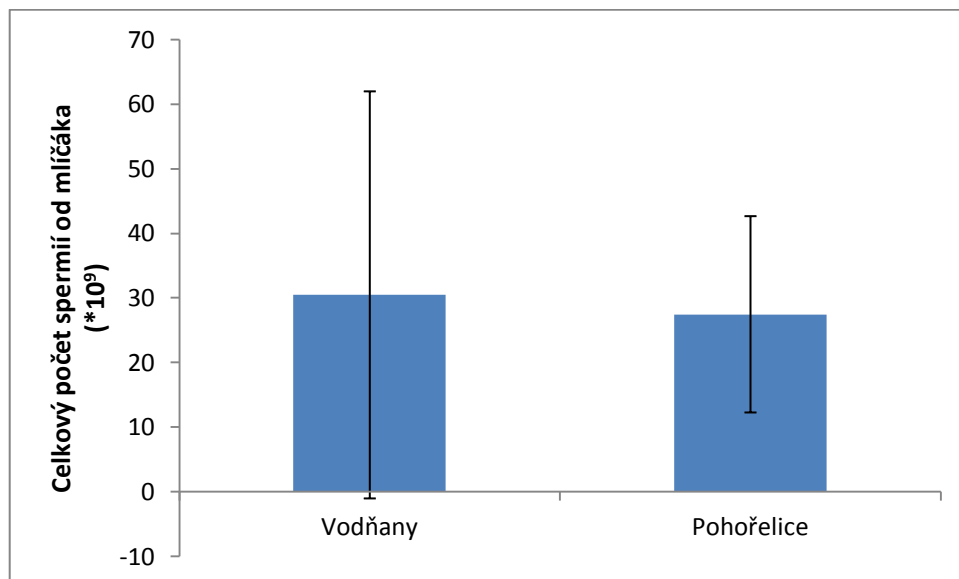
Nejvyšší i nejnižší hodnoty objemu spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka byly zjištěny ve Vodňanech. Maximální hodnota na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka byla 50 ml<sup>-1</sup>, minimální hodnota byla 0,714 ml<sup>-1</sup> na 1 kg mlíčka. Průměrná hodnota zde činila 18,185 ml<sup>-1</sup> získaného spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka. V Pohořelicích byla zjištěna maximální hodnota objemu spermatu 24,487 ml<sup>-1</sup> na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka, minimální hodnota byla 3,359 ml<sup>-1</sup> na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka a průměrná hodnota 10,889 ml<sup>-1</sup> na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka. Mezi skupinami analyzovaných jedinců z chovů ve Vodňanech a Pohořelicích byl zjištěn statisticky významný rozdíl vypočítaných hodnot objemu spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka ( $p < 0,012$ ). Naměřené hodnoty hmotnosti jsou znázorněny v Grafu č. 6.



Graf č. 6 Průměrný objem spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka (ml<sup>-1</sup>) analyzovaných mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic, \* udává statisticky signifikantní rozdíl  $p < 0,05$

## 4.5. Celková pracovní plodnost

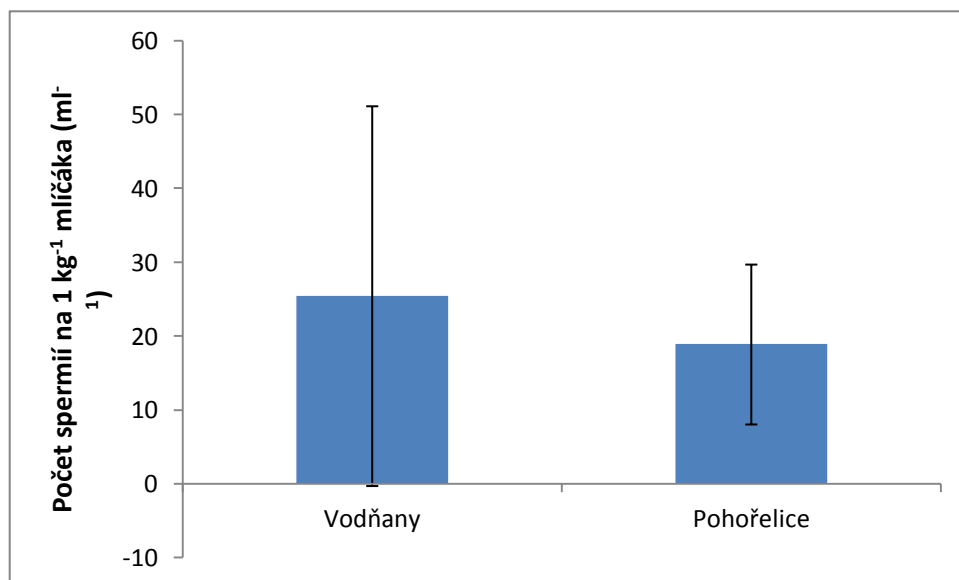
Celkový počet spermií ve spermatu od daného mlíčka nám ukazuje, jaké pracovní plodnosti samec dosahuje. Nejnížší i nejvyšší hodnoty byly vypočítány u mlíčáků ve Vodňanech. Nejnížší hodnota byla  $0,056 \cdot 10^9$  spermií při odebrání  $1 \text{ ml}^{-1}$  spermatu od mlíčka o váze  $1,4 \text{ kg}^{-1}$  a nejvyšší hodnota počtu spermií byla  $119,498 \cdot 10^9$  při objemu spermatu  $42,3 \text{ ml}^{-1}$  od mlíčka o hmotnosti  $1,27 \text{ kg}^{-1}$ . Průměrná hodnota ve Vodňanech byla  $30,456 \cdot 10^9$  spermií o objemu spermatu  $22,25 \text{ ml}^{-1}$  a při váze  $1,24 \text{ kg}^{-1}$ . V Pohořelicích byla průměrná hodnota počtu spermií ve spermatu  $27,452 \cdot 10^9$  o objemu spermatu  $16,62 \text{ ml}^{-1}$  a při váze  $1,57 \text{ kg}^{-1}$ . Mezi jedinci jednotlivých chovů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl vypočítaných hodnot počtu spermií. Vypočítané hodnoty jsou znázorněny v Grafu č. 7.



Graf č. 7 Průměrný celkový počet spermií ( $\cdot 10^9$ ) analyzovaných mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic

#### 4.6. Relativní pracovní plodnost

Relativní pracovní plodnost je celkový počet spermií na  $1 \text{ kg}^{-1}$  hmotnosti mlíčka. Nejnižší i nejvyšší hodnoty byly vypočítány u mlíčáků ve Vodňanech. Nejnižší hodnota byla  $0,040 \cdot 10^9$  spermií a nejvyšší vypočítaná hodnota počtu spermií byla  $94,093 \cdot 10^9$ . Průměrná hodnota počtu spermií na  $1 \text{ kg}^{-1}$  hmotnosti mlíčka byla ve Vodňanech  $25,437 \cdot 10^9$  a v Pohořelicích byla  $18,067 \cdot 10^9$ . Mezi jedinci jednotlivých chovů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl vypočítaných hodnot počtu spermií na  $1 \text{ kg}^{-1}$ . Vypočítané hodnoty jsou znázorněny v Grafu č. 8.



Graf č. 8 Průměrný počet spermií na  $1 \text{ kg}^{-1}$  mlíčka ( $\text{ml}^{-1}$ ) od analyzovaných mlíčáků pocházejících z Vodňan a Pohořelic



## 5. Diskuze

### 5.1. Diskuze k výsledkům

Cílem této práce bylo zjistit, jaké pracovní plodnosti dosahují mlíčáci jesetera malého. Porovnání byli mlíčáci ze dvou zcela odlišných chovů, jedna populace pochází z Ruska (Vodňany) a druhá populace je z Dunaje (Pohořelice). Mezi chovy byly zjištěny signifikantní rozdíly u některých počítaných veličin.

Nejvyšší hodnoty hmotnosti dosáhl mlíčák z rybí líhně v Pohořelicích, která byla  $2,439 \text{ kg}^{-1}$ , naopak nejnižší hmotnost byla zjištěna u mlíčáka ve Vodňanech  $0,6 \text{ kg}^{-1}$ . V Pohořelicích byly ryby celkově větší a těžší, což je zřejmé z údajů zjištěných při výtěru. Objem odebraného spermatu byl velice variabilní, kdy se pohyboval od  $1 \text{ ml}^{-1}$  až po  $65 \text{ ml}^{-1}$  od daného jedince. Obě hodnoty, jak minimální tak maximální objem spermatu byl zjištěn u mlíčáků ve Vodňanech. V Pohořelicích byla průměrná hodnota objemu  $16,62 \text{ ml}^{-1}$ . Rybě o váze  $2,439 \text{ kg}^{-1}$  bylo odebráno sperma o objemu  $21,2 \text{ ml}^{-1}$  (Pohořelice) a mlíčákovi o váze  $1,8 \text{ kg}^{-1}$  bylo vytřeno  $42 \text{ ml}^{-1}$  spermatu. Z výsledků korelace vyplívá, že objem odebraného spermatu není závislý na hmotnosti dané ryby. Není pravidlo, že by větší mlíčák vyprodukoval více spermatu. Ve Vodňanech byli dva mlíčáci o shodné váze  $1,4 \text{ kg}^{-1}$ , u jednoho bylo vytřeno sperma o objemu  $65 \text{ ml}^{-1}$  a u druhého pouze  $1 \text{ ml}^{-1}$ . I v Pohořelicích byl takovýto případ, kdy dva samci o přibližně stejné váze vyprodukovali velice rozdílný objem spermatu. Mlíčáku o váze  $1,413 \text{ kg}^{-1}$  bylo odebráno  $34,6 \text{ ml}^{-1}$  spermatu a mlíčáku o váze  $1,466 \text{ kg}^{-1}$   $5,3 \text{ ml}^{-1}$  spermatu. Nejvyšší hodnota koncentrace byla zjištěna u mlíčáka ve Vodňanech, činila  $3,188 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$  a byla zjištěna z odebraného vzorku ze spermatu o celkovém objemu  $3,5 \text{ ml}^{-1}$ . Naopak nejnižší hodnota koncentrace u ruské populace byla  $0,034 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$  od mlíčáka, kterému bylo vytřeno  $7 \text{ ml}^{-1}$  spermatu. V Pohořelicích byla zjištěna také velice různá hodnota koncentrace v relativně stejném objemovém množství spermatu. U mlíčáka, kterému bylo odebráno  $9,7 \text{ ml}^{-1}$  spermatu, byla vypočítána hodnota koncentrace  $2,969 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$  a mlíčákovi, od kterého jsme získali  $8 \text{ ml}^{-1}$ , byla vypočítána koncentrace  $0,813 \cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ . I přesto, že ve Vodňanech byly ryby o menší váze, byla zde zjištěna nejvyšší hodnota získaného spermatu na  $1 \text{ kg}^{-1}$  mlíčáka a to  $50 \text{ ml}^{-1}$ . Nejnižší objemová hodnota, která zde byla naměřena, byla  $0,714 \text{ ml}^{-1}$  na  $1 \text{ kg}^{-1}$  mlíčáka. Přestože byly mlíčáci v Pohořelicích těžší, maximální hodnota objemu spermatu na  $1 \text{ kg}^{-1}$

mlíčka byla 24,487 ml<sup>-1</sup> a minimální hodnota činila 3,359 ml<sup>-1</sup>. Průměrné hodnoty obou chovů se již tolik nelišily, hodnota ve Vodňanech byla 18,185 ml<sup>-1</sup> na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka a v Pohořelicích 10,889 ml<sup>-1</sup> na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčka. Relativní pracovní plodnost se nelišila jen mezi oběma chovy, ale i u jednotlivých mlíčků daného chovu. Ruská populace vykazovala nejvyšší i nejnižší vypočítané hodnoty. Nejvyšší hodnota byla 94,093.10<sup>9</sup> spermií na 1 kg<sup>-1</sup> hmotnosti mlíčka a nejnižší hodnota činila 0,040.10<sup>9</sup> počtu spermií na 1 kg<sup>-1</sup> hmotnosti mlíčka. Relativní pracovní plodnost u populace z Dunaje byla také v širokém rozhraní, kde nejvyšší hodnota byla 57,390.10<sup>9</sup> spermií na 1 kg<sup>-1</sup> a nejnižší hodnota činila 5,702.10<sup>9</sup> spermií na 1 kg<sup>-1</sup> hmotnosti mlíčka. Z výsledků je patrné, jak je důležité mít při výtěru k dispozici dostatečné množství spermatu k oplození jiker. Celková pracovní plodnost je celkový počet spermií ve spermatu od daného mlíčka. Nejnižší i nejvyšší hodnoty byly vypočítány u samců ve Vodňanech. Nejnižší hodnota byla 0,056.10<sup>9</sup> spermií při odebrání 1 ml<sup>-1</sup> spermatu od mlíčka o váze 1,4 kg<sup>-1</sup> a nejvyšší hodnota počtu spermií byla 119,498.10<sup>9</sup> při objemu spermatu 42,3 ml<sup>-1</sup> od mlíčka o hmotnosti 1,27 kg<sup>-1</sup>. V Pohořelicích byly vypočítané hodnoty také velice rozdílné, nejvyšší hodnota 81,092.10<sup>9</sup> spermií byla zjištěna u mlíčka o váze 1,413 kg<sup>-1</sup> a objemu spermatu 34,6 ml<sup>-1</sup>. Naopak nejnižší zjištěná hodnota celkové pracovní plodnosti byla 6,500.10<sup>9</sup> při odebrání 8 ml<sup>-1</sup> spermatu od mlíčka o váze 1,14 kg<sup>-1</sup>. Průměrná hodnota ve Vodňanech byla 30,456.10<sup>9</sup> spermií o objemu spermatu 22,25 ml<sup>-1</sup> a při váze 1,24 kg<sup>-1</sup>. V Pohořelicích byla průměrná hodnota počtu spermií ve spermatu 27,452.10<sup>9</sup> o objemu spermatu 16,62 ml<sup>-1</sup> a při váze 1,57 kg<sup>-1</sup>. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že průměrné hodnoty obou chovů jsou u celkové pracovní plodnosti velice podobné, liší se u konkrétních jedinců, jak mezi chovy navzájem tak i v samotných chovech. Korelací bylo zjištěno, že s 95% pravděpodobností je celkový počet spermií ve spermatu závislý na objemu odebraného spermatu. Toto se potvrdilo jak v chovu ve Vodňanech, Pohořelicích, tak i v celkovém souhrnu.

Obecně plodnost závisí na stáří a velikosti ryb, jejich výživném stavu a dalších faktorech. Z výsledků této práce je patrné, že u jesetera malého závislost pracovní plodnosti na velikosti ryby nebyla prokázána. Výsledky byly variabilní, korelační koeficient, který byl ve Vodňanech 3 %, v Pohořelicích 12 % a u celkového souhrnu byl 2 %, nám určil skoro žádnou závislost. Souvislosti mezi různými faktory ovlivňující plodnost a dosahovanou plodností u jesetera malého nebyla v této práci zkoumána.

Zjištění vlivu složení potravy, věku nebo prostředí, ve kterém jsou ryby chovány, na jejich plodnost by mohlo být námětem na další zkoumání plodnosti ryb.

## **5.2. Diskuze k plodnosti v širších souvislostech**

U jednotlivých živočišných druhů včetně ryb je existenční podmínkou schopnost obnovy vlastní početnosti. Natilita (množivost) udržuje potřebný počet jedinců daného druhu a zvyšuje početnost prvotní rodičovské základny. Faktory, které omezují reprodukci a s tím spojenou plodnost, je mnoho. Mezi biotické faktory patří např. predace, potrava, nemoci a abiotickými faktory jsou např. fyzikální a chemické změny prostředí a klimatické jevy (Dajoz, 1975). Hmotnost gonád u samců i samic je do určité míry závislá na velikosti a váze jedince (Pivnička, 1981). Vztah IAP (individuální absolutní plodnost) k délce těla je využíván ve většině studiích plodnosti ryb. Ne vždy je ale růst a hmotnost ryb synchronní, proto v určitých etapách růstové sezóny bude docházet spíše k zvyšování hmotnosti těla, v jiné bude větší délkový přírůstek. Z toho vyplývá, že hmotnost gonád ku délce těla bude mít v období délkového přírůstku jinou křivku než v období přírůstku váhového (Bagenal, 1967). Další využití při analýze plodnosti má GSI index, kterým se stanovuje procentuelní poměr gonád k celkové váze těla. Nejvyšších hodnot bývá dosahováno těsně před výtěrem, kdy gonády vyplňují až 2/3 tělní dutiny (Anderson & Gutreuter, 1983). Reprodukční věk ryb je druhově variabilní a dosažení pohlavní dospělosti závisí na potravních podmínkách, rychlosti růstu a teplotě. Při vyšší teplotě dochází k rychlejšímu růstu a tím i k rychlejšímu dozrávání pohlavních gonád (Wootton, 1992). Vlivem nedostatku potravy a poklesu teploty může docházet k poklesu plodnosti nebo úplnému vynechání tření (Pivnička, 1981).

Velkou hrozbou dnešní doby pro životní prostředí a tím i pro ryby je hormonální antikoncepce, která působí jako endokrinní disruptor. Někteří vědci již zjistili, že hormony obsažené v odpadních vodách mohou některé druhy ryb zcela vyhubit. Hormony se dostávají do odpadních vod z domácností (ženy je vylučují močí). Moč obsažená v odpadních vodách putuje do ČOV (čistička odpadních vod), kde dochází více či méně pomocí bakterií k metabolické přeměně organických sloučenin. Hormony zůstávají nezměněny nebo se mění na látky, které mají větší hormonální

účinky než samotné pilulky. Tyto látky ovlivňují vývoj gonád u ryb, nejen v řekách nebo mořích, ale i v rybnících, kam se takto kontaminovaná voda dostane. To má negativní dopad na reprodukci ryb (dochází k poklesu plodnosti) a i na ostatní vodní organismy, protože jsou po celý svůj životní cyklus vystaveny reziduíům obsažených ve vodě (Vlčková, 2012, Randák a kol., 2008). Podmínky v intenzivním chovu jsou pro ryby oproti přirozenému prostředí v přírodě vždy do určité míry odlišné (Peňáz, 1983) a proto i plodnost, které ryby dosahují, se bude lišit. V uzavřených chovech není tak velké riziko ovlivnění plodnosti ryb farmaky obsaženými ve vodách jako je tomu ve volné přírodě. U polointenzivních chovů toto riziko stoupá, protože sádky, kde jsou ryby přechovávány, jsou napouštěny rybniční či říční vodou. Vlivem hormonů dochází u mlíčáků ryb ke změně pohlaví, varlata jsou přeměňována na vaječníky, u jikernaček dochází k poklesu plodnosti. Takto změněné ryby nejsou schopny reprodukce, protože mají narušenou plodnost nebo jsou úplně neplodné. Postupně dochází k vymírání populací (Randák a kol., 2008).

Evropské rybářství se v posledním desetiletí začalo více zabývat intenzivním chovem ryb. V takovémto chovu jsou ryby trvale chované v řízených a kontrolovaných podmínkách (Kestemont a Dabrowski, 1996; Kestemont a Mélard, 2000) a proto nejsou tolik vystaveny negativním vlivům, které by ovlivňovaly jejich plodnost. Produkce ryb v Evropě tvoří jednu třetinu celkového množství ryb z těchto chovů. Do budoucna se předpokládá, že pro produkci tržních a násadových ryb budou mít intenzivní chovy ryb o mnoho větší význam než doposud a to z důvodů limitované produkce ryb z moří a vnitrozemských řek a rybníků (Cahu a kol., 2004).

## 6. Závěr

Tato práce byla zaměřena na zjištění pracovní plodnosti mlíčáků jesetera malého v podmínkách českých chovů. Studii plodnosti ryb není doposud věnována taková míra pozornosti, jakou by si tato oblast zkoumání po právu zasloužila, zvláště pak vlivu různých faktorů, které plodnost u jednotlivých druhů ryb ovlivňují. Bylo by nasnaze tyto faktory analyzovat a snažit se jejich případné negativní vlivy v intenzivních chovech eliminovat nebo úplně odstranit.

V první části bakalářské práce byla má pozornost věnována charakteristice jeseterovitých ryb se zaměřením na jesetera malého, jeho ohrožení a chov v akvakultuře, plodnosti ryb a zjišťování koncentrace spermií. Ve druhé praktické části této práce jsem se věnovala analýze a statistickému zpracování konkrétních dat, která jsem získala v průběhu několika umělých výtěrů z uzavřeného chovu pokusného zařízení Genetického rybářského centra FROV JU ve Vodňanech a z rybí líhně Rybníkářství Pohořelice, a.s.

Mezi chovy byly zjištěny signifikantní rozdíly u některých počítaných veličin. V Pohořelicích byly ryby větší a těžší, ale z výsledků je zřejmé, že u jesetera malého není objem spermatu závislý na hmotnosti dané ryby. Neplatí tady, že čím větší ryba, tím větší množství spermatu vyprodukuje. Naopak bylo zjištěno, že na objemu odebraného spermatu závisí celkový počet spermií ve spermatu. Závislost pracovní plodnosti na velikosti ryby nebyla v této studii prokázána.

Ve většině studií různých druhů ryb nebo dostupné literatuře je uváděna plodnost daného druhu jen u jikernaček, mlíčáci jsou jaksí opomíjeni. Nebylo by od věci věnovat pozornost studii i plodnosti samců – mlíčáků, protože kvalita a množství spermií ve spermatu nám zaručují budoucí potomstvo a zachování druhu. V každém chovu je třeba mít mlíčáky s vysokou pracovní plodností, kteří nám zajistí úspěšný akvakulturní chov. Bez mlíčáků by to nešlo.

## 7. Přehled použité literatury

- Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K., Rafiee, G., eds., 2008. Fish Spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford. UK., 465 s. ISBN 978-1-84265-369-2.
- Alavi, S.M.H., Hatef, A., Pšenička, M., Kašpar, V., Boryshpolets, S., Dzyuba, B., Cosson, J., Bondarenko, V., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O. 2012. Sperm biology and control of reproduction in sturgeon: (II) sperm morphology, acrosome reaction, motility and cryopreservation. Review in Fish Biology and Fisheries. 22, 4, s. 861-886.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., 2012. Reviews in Fish Biology and Fisheries. Springer Netherlands. 22, 695-717.
- Alavi, S.M.H., Linhart, O., Coward, K., Rodina, M., 2008. Fish dermatology: Implication for aquaculture management. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K., Rafiee, R. (Eds), Fish Spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford, UK. pp. 397-460.
- Altuf'ev, Y., 1997. Morphofunctional abnormalities in the organs and tissues of the Caspian sea sturgeons cause by ecological ganges, same volume. 1997. In: Birstein, V.J., Bauer, A., Kaise-Pohlmann, A. (eds). Proceedings of the Sturgeon Populations and Caviar Trade Workshop, IUCN SSC p. 81.
- Anderson, R.O., Gutreuter, S.J., 1983. Length, weight and associated structural indices. In: Nielsen, L.A., Johnson, D.L., eds. Fisheries techniques. Bethesda, MD: American Fisheries Society , pp. 283-300.
- Bagenal, T.B., 1967. A short review of fish fecundity. *ibid.*: 89-111
- Barannikova, I.A., 1987. Review of sturgeon farming in the Soviet Union. *J. Ichthyol*, 35, 62-71.
- Barber, B.J. & Blake, N.J, 2006. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, pp.357-416
- Baruš, V., Oliva, O., 1995. Fauna ČR a SR. Mihulovci a ryby (1). Academia, Praha. pp. 138-141.
- Bemis, W.E., Findeis, E.K., Grande, L., 1997. An overview of Acipenseriformes. *Env. Biol. Fish*, 48, 25-71.
- Berg, L. S., 1962. Freshwater fishes of the U.S.S.R and adjacent countries. Volume 1, 4 edition. Israel Program for Scientific Translations Ltd., Jerusalem.
- Billard, R. and Fléchon, J., 1969. Particularité de la pièce intermédiaire de quelques Poissons Téléostéens. *J Microscopie* 8:36a.
- Billard, R., Cosson, M.P., 1990. The energetics of fish sperm motility In Controls of sperm motility: Biological and Clinical Aspect (S.Randall.Ed.) CRC Press, Boston, 153- 173.
- Billard, R., Cosson, J., Percec, G. and Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129: 95-112.

- Billard, R., Lecointre, G., 2001. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. *Rev. Fish Biol. and Fisher*, 10, 335-392.
- Biolib.cz, Jeseter malý (*Acipenser ruthenus*), [online], [cit. 2015-04-18], dostupné na: <http://www.biolob.cz/cz/image/id191822>
- Bloesch, J., Jones, T., Reinartz, R., Striebel, B., 2006. Österreichische Wasser und Abfallwirtschaft. Springer – Verlag. 58, 81-88.
- Cahu, C., Salen, P., de Logeril, M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible difference in lipid nutritional values. *Nutrition metabolism and cardiovascular diseases*, 14 (1): 34-41
- Ciolac, A. and Patriche N., 2005. "Biological aspects of main marine migratory. Sturgeons in Romanian Danube River. Migration of fishes in Romanian Danube River." *Applied Ecology and Environmental Research*, Res. 2 (1): 143-163.
- CITES – Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Dostupné na: <http://cites.org>.
- Clover, Ch., 2004. *The End of the Line: How overfishing is changing the World and what we eat*. Ebury Press, London. ISBN 0-09-189780-7.
- Cosson J., Percec G., Cosson M. P., Jeulin C., Billard R., (1996): Morphological and kinetic changes of carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa after initiation of motility in distilled water, *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 35 (2), 113–120.
- Cosson, J., Billard, R., Cibert, C., Dréano, C., Suquet, M., 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In: Gagnon, C. (Ed), *From Basic Science to the Male Gamete to Clinical Application*. Cache River Press Vienna IL USA. pp. 161-186.
- Dajoz, R., 1975. *Osnovy ekologie*. Moskva: 1-412
- De Meulenaer, T., Raymakers, C., 1996. *Sturgeons of the Caspian Sea and the international trade in caviar*. TRAFFIC International, Cambridge, UK.
- Debus, L., 1997. Sturgeon in Europe and causes in their decline. In: Birstein, V.J., Bauer, A., Kaiser-Pohlmann, A. (eds). *Proceedings of the Sturgeon Populations and Caviar Trade Workshop*, IUCN SSC Paper No. 17: 55-68.
- Doroshov, S.I., Binkowski, F.P., 1985. Epilogue: a perspective on sturgeon culture. In: Binkowski, F.P., Doroshov, S.I. (eds.). *North American Sturgeons*. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Dubský, K., Kouřil, J., V. Šrámek, V., 2003. *Obecné rybářství*. Vydání první. Praha, Informatorium, 312 s. ISBN 80-7333-019-9.
- Duke, S., Anders, P., Ennis, G., Hallock, R., Hammond, J., Ireland, S., Lauffle, J., Lauzier, R., Lockhard, L., Marotz, B., Paragamian, V. L., Westerhof, R., 1999. Recovery plan for Kootenai River white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Journal of Applied Ichthyology* 15 (4-5), 157-163.

- Eenennaam, J.P., Doroshov, S. I., 1998. *Journal of Fish Biology*. Blackwill Publishing Ltd. 53, 624-637.
- FAO.fao.org. [online]. 2013, [cit. 2013-29-12], dostupné na: [www.fao.org](http://www.fao.org)
- Froese, R and Pauly, D., eds 2006. *Acipenseriformes in Fish Base*. 05 2006 version.
- Frov.jcu.cz, spermie s akrozomem, [online], [cit. 2015-04-04], dostupné na: <http://www.frov.jcu.cz/cs/vyzkumny-ustav-rybarsky-a-hydrobiologicky-vuhr/laborator-fyziologie-reprodukce>
- Gardiner, B. G., 1984. Sturgeons as living fossils. In: Eldredge, N., S. M. Stanley (Eds.), *Living Fossils*. Springer-Verlag, New York. 148-152 pp.
- Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (Acipenser). *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 78, 1-24.
- Gela, D., Kahanec, M., Flajšhans, M., Rodina, M., Linhart, O., 2009. Chov chrupavčitých ryb ve Vodňanech. *Konference 60. let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně. MZLU v Brně*, s. 90.
- Gela, D., Kahanec, M., Rodina, M., 2012. Metodika odchovu raných stádií jeseterovitých ryb. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 126, 1-46.
- Gela, D., Veis, D., Nebeský, V., 2013. Unikátní kolekce jeseterů ve Vodňanech se rozrostla o dva nové druhy. Dostupné na: <http://www.frov.jcu.cz/cs/aktuality-2013/unikatni-kolekce-jeseteru-ve-vodnanech-se-rozrostla-o-dva-nove-druhy>. Staženo 23.3. 2015.
- Geraskin, P. P., 1995. Sturgeon (Acipenseridae) responses to new ecological condition in the Caspian Sea. *Proc. Intern. Sturg. Symp., Moscow, VNIRO*, pp. 173-177.
- Gessner, J., Freyhof, J. & Kottelat, M. 2010. *Acipenser ruthenus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- Gwo, J.C., 2000. Cryopreservation of aquatic vertebrates semen, review. *Aquaculture Research* 31: 259-271.
- Hanel, L., 1998. *Svět zvířat VIII. Ryby 1*. Albatros Praha.
- Hanel, L., 2001. *Naše ryby a rybaření*. Nakladatelství Brázda, s. r. o., Praha.
- Hatef, A., Alavi, S. H. M., Butts I. A., Policar, T., Linhart, O. 2011. Mechanism of action of mercury on sperm morphology, adenosine triphosphate content and motility in *Perca fluviatilis* (Percidae, Teleostei). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30, 4, s. 905-914.
- Hochleitner, M., Gessner, J., 1999. *The Sturgeons and Paddlefishes of the World. Biology and Aquaculture*. Aqua Tech Publications, ISBN 3-9500968-0-9.
- Hochleitner, M., 2004. *Störe – Biologie und Aquakultur*. Aqua Tech Publications, pp. 9-222.



- Hung, S. S. O., 1991. Nutrition and feeding of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*): an overview. In Williot, P., (Ed). Proceedings of the First International Symposium on the Sturgeon. Cemagraf, France, pp. 65-77.
- IUCN 2013. IUCN Red list of Threatened Species. Version 2013.2. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Downloaded on 01 April 2015.
- IUCN, the International Union for Conservation of Nature. 18 March 2010. Retrieved December 6, 2010.
- Kahanec, M., Bláha, M., Gela, D., Rodina, M., Flajšhans, M., Linhart, O., 2010. Rybář, č. 3, 24-31.
- Khodorevskaya, R. P., Dovgopol, G. F., Zhuravleva, O. L., Vlasenko, A. D., 1997. Present status of commercial stock of sturgeons in the Caspian Sea basin. *Env. Biol. Fish*, 48, 209-219.
- Kestemont, P., Dobrowski, K., 1996. Recent advances in the aquaculture of Percid fish. *Journal Applied Ichthyology*, 12: 137-200.
- Kestemont, P., Mélard, C., 2000. Aquaculture In: Craig, J.F., Systematics, Ecology and Exploitation. In Petcher, T.J. (ed), *Fish and Aquatic Resources Series 3*. Blackwell Sciences, 191-224.
- Knight, A. T., Cowling, R. M., Difford, M., Campbell, B. M., 2010. Mapping Human and Social Dimensions of Conservation Opportunity for the Scheduling of Conservation Action on Private Land, *CONSERVATION BIOLOGY*, Vol: 24, Pages: 1348-1358, ISSN: 0888-8892
- Kottelat, M. and Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin, 646 pp.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Lepič, P., Mareš, J., 2002. Poloumělý a umělý výtěr okouna říčního a odchov jeho raného plůdku. *Edice metodik VÚRH JU Vodňany*, 68: 1-12.
- Krieger, J. and Fuerst P. A., 2002. Evidence for a Slowed Rate of Molecular Evolution in the order Acipenseriformes molecular biology and evolution, 19: 891-897.
- Krupauer, V., Kubů, F., 1985. Kapr obecný. Nakladatelství Naše Vojsko, Praha. 201 pp.
- Linhart, O., 1984. Dlouhodobé uchování spermatu některých druhů ryb, I zamrazování, *Buletin VÚRH Vodňany* č. 2, 34-43.
- Linhart, O., Pokorný, J., 1984. Hodnocení čerstvého spermatu ryb *Metodika VÚRH Vodňany* č. 14, 3-13 stran.
- Linhart O., Šlechta V., Slavík T., 1991. Fish sperm composition and biochemistry. *Bulletin of Institut of Zoology. Academia Sinica, Monograph*. 16, 288-311 s.
- Linhart, O., Cosson, J., Mims, S. D., Shelton, W. L., Rodina, M., 2002. Effects of ions on the motility of fresh and demembrated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. *Reproduction*. 24, 5, 713-719 s.

- Linhart, O., Dzyuba, B., Boryshpolets, S., Rodina, M. 2010. Zmrazování spermatu jesetera malého (*Acipenser ruthenus*). Edice Metodik, České Budějovice, FROV JU Vodňany, 21 s. ISBN 978-80-87437-03-2.
- Linhart, O., Rodina, M., Boryshpolets, S., 2011. Hodnocení čerstvého spermatu ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 114, 19 s.
- Lucas, M.C., Baras, E., Thom, T. J., Duncan, A. and Slavík, O., 2001. Migration of freshwater fishes. Oxford: Blackwell Science. 440 p.
- Ludwig, A., 2008. Identification of *Acipenseriformes* species in trade. J. Appl. Ichthyol, 2-11, 24.
- Moiseeva, E. B., Fedorov, S. I., Parfenova, N. A., 1997. On the pathologies of the gonad structure in fiale sturgeons (*Acipenseridae*). J. Ichthyol, 37(8), 624-630.
- Musil, J., & Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. *Edice metodik VÚRH JU Vodňany*, 76, 1-14.
- Nikolskij, G. V., 1965. Theory of a fis stock development as a biological design for well-balanced work and exploitation of fis ressource. Nauka, Moscow. [In Russian]
- Paraschiv, M., Suciú, R., et al., 2006. "Present state of sturgeon stocks in the Lower Danube River, Romania." Austrian Committee Danube Research / IAD, Vienna: 152-158 pp.
- Paru.cas.cz, spermie jesetera, [online], [cit. 2015-04-10], dostupné na: [http://www.paru.cas.cz/lem/bak/1\\_1.htm](http://www.paru.cas.cz/lem/bak/1_1.htm)
- Peňáz, M., 1983. Ecomorphological laws and early ontogeny of Salmonoidei. *Folia Zool.*, Brno 32 (4): 365-373.
- Pikitch, E. K., Doukakis, P., Lauck, L., Chakrabarty, P., Erickson, D. L., 2005. Status, trends and management of sturgeon and paddlefish fisheries. *Fish. Fish*, 6, 233-265.
- Pivnička, K., 1981. Ekologie ryb, odhady základních parametrů charakterizující rybí populace. Univerzita Karlova v Praze. str. 78-173
- Pivnička, K., Švátora, m., 1988. Living together of roach and perch with respect to their competition in Klicava Reservoir between 1964-1986. *Universitas Carolina Environmentalica* 2: 17-85.
- Prokeš, M., Baruš, V., Mareš, J., Peňáz, M., & Baránek, V., 2014. Growth of sterlet *Acipenser ruthenus* under experimental and farm conditions of the Czech Republic, with remarks on other sturgeons. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59(6), 281-290.
- Pšenička, M., Rodina, M., Nebesářová, J., Linhart, O., 2006. Ultrastructure of spermatozoa of tench *Tinca tinca* observed by means of scanning and transmission elektron microscopy. *Theriogenology* 66: 1355-1363.

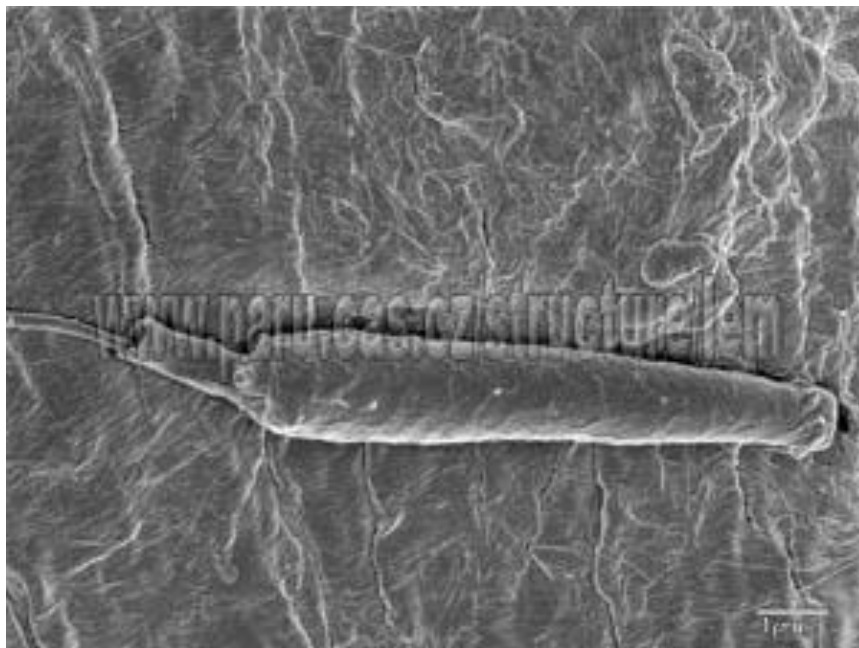
- Pšenička, M., Vancová, M., Koubek, P., Těšitel, J., Linhart, O., 2009. Fine structure and morphology of sterlet (*A. ruthenus*) spermatozoa and acrosin localization. *Animal reproduction Science*. Elsevier. 111, 3-16.
- Pšenička M., Rodina M., Linhart O., 2010. Ultrastructural study on the fertilisation process in sturgeon (*Acipenser*), function of acrosome and prevention of polyspermy, *Animal Reproduction Science* 117, 147–154.
- Rana, J.K., 1995. Cryopreservation of fish spermatozoa. In: Day J.G., Lellan M.R. (Eds), *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*, Humanna Press, Totowa, New Jersey. pp. 29: 259-270.
- Randák, T., Velíšek, J., Žlábek, V., Kolářová, J., Kroupová, H., Grabic, R., Valentová, O., Máchová, J., Svobodová, Z., Piačková, V., Faina, R., Sudová, E., Beránková, P., Turek, J., Hanák, R., 2008. Antropogenní tlaky na stav půd, vodní zdroje a vodní ekosystémy v české části mezinárodního povodí Labe, B7 Výzkum vlivu polutantů přítomných ve vodním prostředí na ryby, Zpráva za rok 2008, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany, 20 s.
- Riede, K., 2004. Global register of migratory species - from global to regional scales. Final Report of the R&D-Projekt 808 05 081. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn, Germany. 329 p.
- Rodina, M., Dzyuba, B., Boryshpolets, S., Linhart, O., 2012. Opakovaný odběr spermatu jesetera malého a jeho využití při řízené reprodukci. *Edice metodik FROV JU Č.B., č. 128.*
- Rochard, E., Castelnaud, G., Lepage, M., 1990. *Journal of Fish Biology*. Blackwell Publishing Ltd. 37, 123-132.
- Ruban, G. I., 1997. Species structure contemporary distribution and status of the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Env. Biol. Fish*, 48, 221-230.
- Saffronová, I., 2004. Kaviár – fascinující cesta za utajenými dějinami kaviáru. *BB/art, s. r. o., 42.*
- Steffens, W., 1975. *Der Karpfen. Die neue Brehm-Bucherri*, Wittenberg – Lühherstadt. pp. 215
- Stoss, J., 1983. Fish gamete preservativ and spermatozoan fysiology. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds), *Fish Physiology* New York, London. Academic Press. pp. 305-350.
- Suciu, R., Baboianu, C., et al., 1997. Protection and recovery of migratory sturgeon populations in the Lower Danube River (in Romanian). Tulcea, Romania, Danube Delta National Institute:27.
- Švátora, M., 1986. *Okoun říční, Naše vojsko*, Praha. 82 s.
- Vlčková, T., 2012. Environmentální souvislosti užívání hormonální antikoncepce. *Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Fakulta sociálních věcí.* (online) Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/323268/fss\\_b\\_b1/bakalarska\\_prace\\_Tereza\\_Vlckova\\_definitivni.pdf](http://is.muni.cz/th/323268/fss_b_b1/bakalarska_prace_Tereza_Vlckova_definitivni.pdf).

- Von Bayer., 1908. A method of measuring fish eggs. Bulletin of the US Bureau of Fisheries. 28(2),1009-1014.
- Vostradovsky, J., 1973. Freshwater fishes. The Hamlyn Publishing Group Limited, London. 252 p.
- Williot, P., Sabeau, L., Gessner, J., Arlati, J., Bronzi, P., Gulyas, T., Berni, P., 2001. Sturgeon fading in Western Europe: recent developments and perspectives. Aquat. Living Resour, 14, 367-374.
- Wootton, R.S., 1992. Fish ecology. Scotland: Thomson Litho Ltd.: 132-160, 203 pp.
- Wu, J., Huang, J., Han, X., Gao, X., He, F., Jiang, M., Jiang, Z., Primack, R. B., Shen, Z., 2004. The Three Gorges Dam: an ecological perspective. Front. Ecol. Environ, 2(5), 241-248.
- Zolotukhin, S. F. and Kaplanova N. F., 2007. Injurie of Salmon in the Amur nRiver and its Estuary as an Index of the Adult Fish Mortality in the Period of Sea Migrations. NPAFC, Technical Report No. 4.

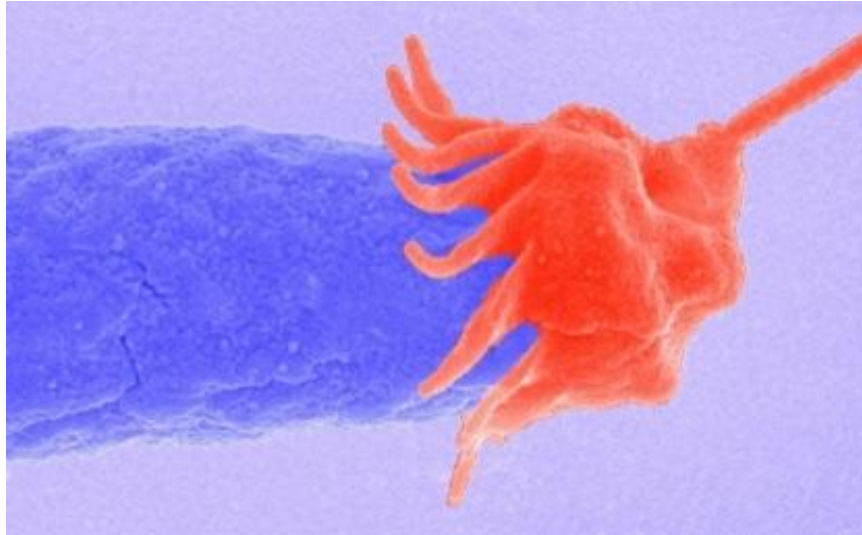
## 8. Přílohy



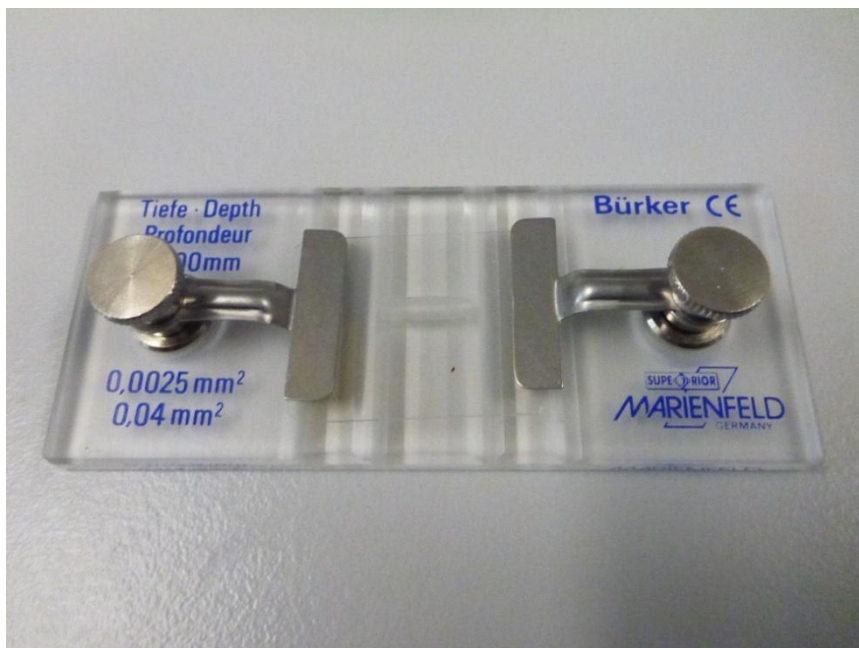
Obr. č. 1 Jeseter malý (*A. ruthenus*) (zdroj: [www.biolib.cz](http://www.biolib.cz), foto M. Kořínek)



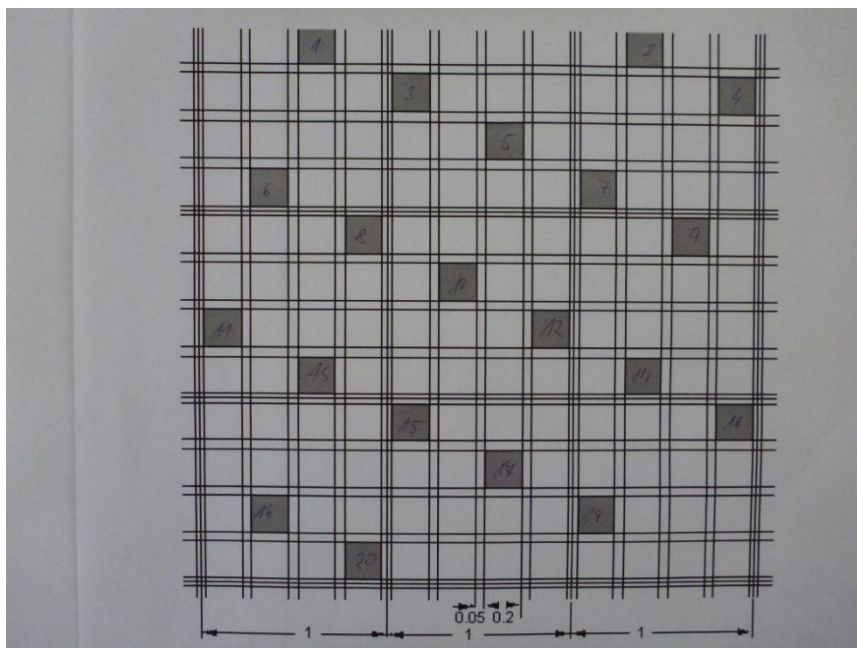
Obr. č. 2 Spermie jesetera malého (*A. ruthenus*) (zdroj: [www.paru.cas.cz](http://www.paru.cas.cz))



Obr. č. 3 Detail spermie s akrozomem (*A. baerii*) (zdroj: [www.frov.jcu.cz](http://www.frov.jcu.cz), foto S. Borysholtse)



Obr. č. 4 Bürkerova počítací komůrka (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 5 Rastra Bürkerovy komůrky (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 6 Pokusné zařízení Genetického centra FROV JU Vodňany (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 7 Rybí líheň Rybnikářství Pohořelice, a. s. (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 8 Mlíčáci jesetera malého v bazénu před výtěrem, Vodňany (foto J. Schacherlová)





Obr. č. 9 Mlíčáci jesetera malého v bazénu v lázni anestézie hřebíčkovým olejem před výtěrem, Pohořelice (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 10 Odlov mlíčka z bazénu (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 11 Mlíčák jesetera malého (*A. ruthenus*) na výtěrovém stole (foto J. Schacherlová)



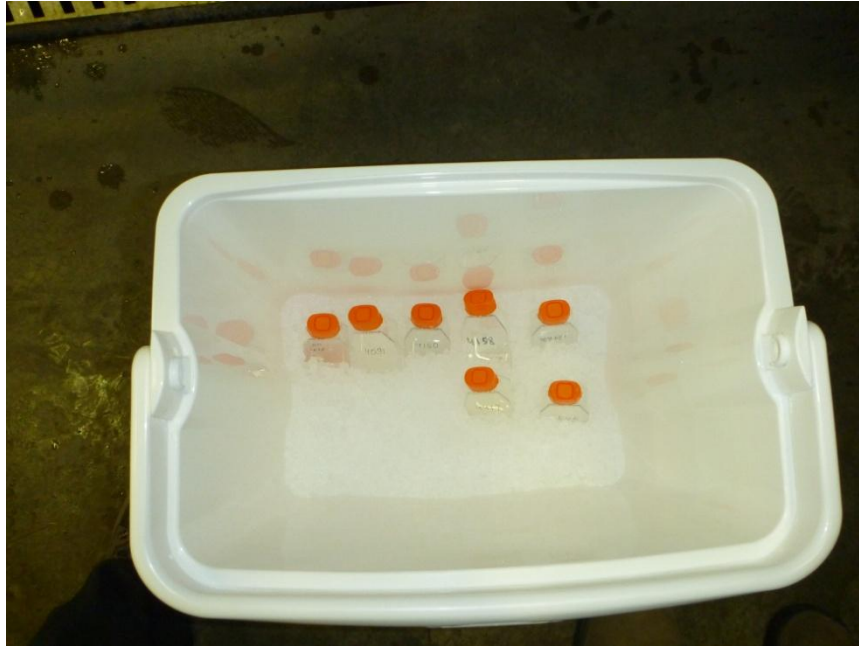
Obr. č. 12 Odběr spermatu pomocí kanyly (foto J. Schacherlová)



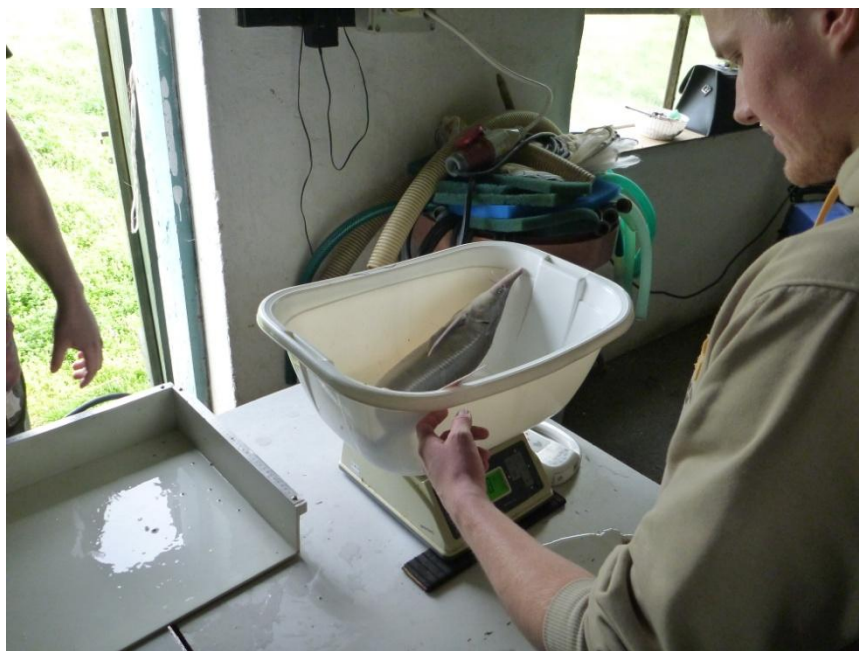
Obr. č. 13 Odběr spermatu pomocí kanyly do plastového kontejneru (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 14 Odběr spermatu pomocí odsávačky (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 15 Odebrané sperma v označených plastových kontejnerech v chladicím boxu s šupinkovým ledem (foto J. Schacherlová)



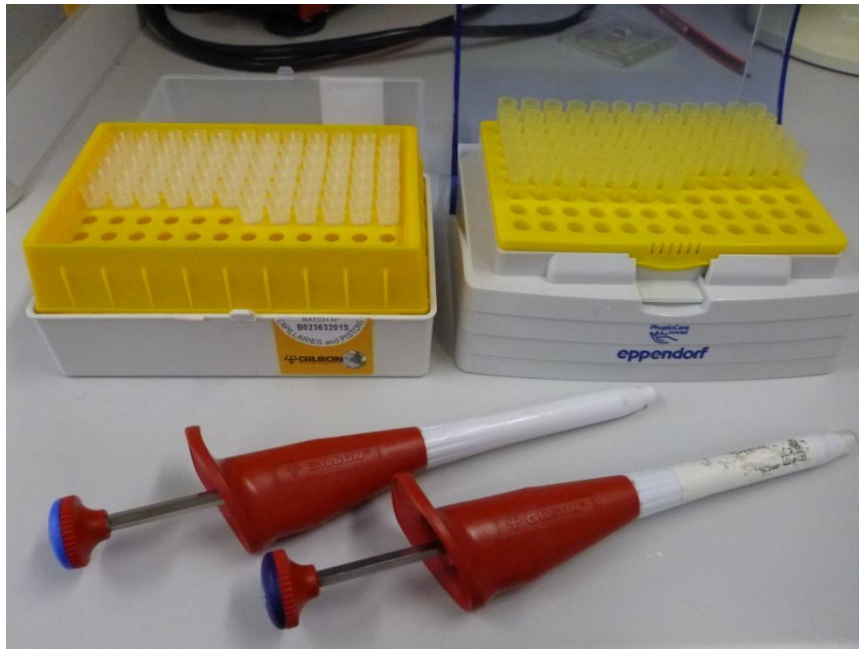
Obr. č. 16 Vážení ryb (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 17 Měření ryb a zjišťování čipového kódu (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 18 Mikroskop OLYMPUS BH-2 (foto J. Schacherlová)



Obr. č. 19 Mikropipety (foto J. Schacherlová)

Tab. č. 2 Hodnoty veličin pro výpočet plodnosti jesetera malého, Vodňany

Evidenční číslo ryby (PIT/značka)	Hmotnost ryby (kg <sup>-1</sup> )	Objem spermatu (ml <sup>-1</sup> )	Koncentrace spermií (*10 <sup>9</sup> *ml <sup>-1</sup> )
4028	1,3	14	1,013
4319	0,95	18,4	1,625
bez čísla	1,37	12,1	0,675
4316	1,27	42,3	2,825
4091	1	30	1,781
4150	1	15	1,422
4417	1,1	32,5	2,859
4537	0,6	9,8	2,531
4545	0,72	10	1,016
4149	1,25	31	1,578
5374887	1,05	6,3	1,328
4119	1,3	65	0,984
5166271	1,08	42	1,656
4128	1,3	6	0,080
4025	1,5	42	1,031
4166	1	6,5	0,177
bez čísla	1,3	3,5	3,188
4085	1,45	1,6	0,313
4325	1,25	4	1,750
4091	1,55	7,6	0,122
4096	1,8	7	0,034
4331	1,1	3,9	0,159
4086	1,55	45	1,625
4119	1,4	65	1,203
4546	0,7	13	0,172
4080	1,4	1	0,056
4042	1,3	34	0,656
4128	1,4	35	1,156
4096	1,75	24	0,969
405-	1,3	40	1,086

Tab. č. 3 Hodnoty veličin pro výpočet plodnosti jesetera malého, Pohořelice

Evidenční číslo ryby (PIT/značka)	Hmotnost ryby (kg <sup>-1</sup> )	Objem spermatu (ml <sup>-1</sup> )	Koncentrace spermií (*10 <sup>9</sup> *ml <sup>-1</sup> )
4908436	1,747	14,7	2,609
4902766	1,324	10,3	1,031
4938072	1,413	34,6	2,344
4909549	1,857	21,9	1,047
5369541	1,614	18,7	1,328
4933823	2,439	21,2	1,359
4896633	1,267	21,1	1,266
4911552	2,432	21,8	1,266
10045293	1,11	17,8	1,250
10045487	1,733	31,6	1,266
5354923	1,376	16	1,734
10046372	1,843	9,7	2,969
5361815	1,043	12,5	1,922
5369737	1,547	17,8	1,609
5394044	1,697	5,7	2,828
5397573	1,438	13,7	2,156
5364182	1,466	5,3	1,891
5363334	1,293	13,4	2,016
5381464	1,14	8	0,813



Tab. č. 4 Vypočítané hodnoty z koncentrace spermií jednotlivých ryb, Vodňany

Evidenční číslo ryby (PIT/značka)	počet spermií na 1 kg mlíčka (*10 <sup>9</sup> *ml <sup>-1</sup> )	objem spermatu na 1 kg mlíčka (ml <sup>-1</sup> )	celkový počet spermií od mlíčka (*10 <sup>9</sup> )
4028	10,904	10,769	14,175
4319	31,474	19,368	29,900
bez čísla	5,962	8,832	8,168
4316	94,093	33,307	119,498
4091	53,436	30,000	53,436
4150	21,327	15,000	21,327
4417	84,479	29,545	92,927
4537	41,343	16,333	24,806
4545	14,106	13,889	10,156
4149	39,137	24,800	48,921
5374887	7,969	6,000	8,367
4119	49,220	50,000	63,986
5166271	64,412	38,889	69,565
4128	0,368	4,615	0,478
4025	28,876	28,000	43,315
4166	1,148	6,500	1,148
bez čísla	8,582	2,692	11,156
4085	0,345	1,103	0,500
4325	5,600	3,200	7,000
4091	0,598	4,903	0,926
4096	0,134	3,889	0,241
4331	0,565	3,545	0,622
4086	47,177	29,032	73,125
4119	55,858	46,429	78,202
4546	3,194	18,571	2,236
4080	0,040	0,714	0,056
4042	17,157	26,154	22,304
4128	28,900	25,000	40,460
4096	13,289	13,714	23,256
405-	33,415	30,769	43,440

Tab. č. 5 Vypočítané hodnoty z koncentrace spermií jednotlivých ryb, Pohofelice

Evidenční číslo ryby (PIT/značka)	počet spermií na 1 kg mlíčka (*10 <sup>9</sup> *ml <sup>-1</sup> )	objem spermatu na 1 kg mlíčka (ml <sup>-1</sup> )	celkový počet spermií od mlíčka (*10 <sup>9</sup> )
4908436	21,957	8,414	38,358
4902766	8,022	7,779	10,621
4938072	57,390	24,487	81,092
4909549	12,346	11,793	22,927
5369541	15,388	11,586	24,835
4933823	11,816	8,692	28,819
4896633	21,077	16,654	26,704
4911552	11,345	8,964	27,590
10045293	20,045	16,036	22,250
10045487	23,077	18,234	39,993
5354923	20,167	11,628	27,750
10046372	15,625	5,263	28,796
5361815	23,033	11,985	24,024
5369737	18,518	11,506	28,647
5394044	9,499	3,359	16,120
5397573	20,542	9,527	29,540
5364182	6,835	3,615	10,020
5363334	20,889	10,363	27,009
5381464	5,702	7,018	6,500

## 9. Abstrakt

### **Pracovní plodnost mlíčáků jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v provozních podmínkách českých chovů**

V současné době jsou studie plodnosti ryb většinou zaměřeny na plodnost jikernaček. Studie, které by vypovídaly o plodnosti mlíčáků kteréhokoli druhu, ve velké míře chybí. Hlavním cílem této práce bylo zjistit, jaké pracovní plodnosti dosahují mlíčáci jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v provozních podmínkách českých chovů. Porovnávání byli mlíčáci z chovu ve Vodňanech, kde chovaná populace pochází z Ruska a u mlíčáků z chovu v Pohořelicích, kde chovaná populace pochází z Dunaje. Celkem bylo mezi sebou porovnáno 49 kusů ryb. Po umělém výtěru, kdy bylo mlíčákům odebráno sperma, byla ze vzorku 1 ml<sup>-1</sup> spermatu vypočítána koncentrace spermií ( $.10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ). Následně byl vypočítán počet spermií na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčáka ( $.10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ), objem spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčáka (ml<sup>-1</sup>) a celkový počet spermií od mlíčáka ( $.10^9$ ).

Nejvyšších hodnot hmotnosti, které byly u mlíčáků zjištěny, byly naměřeny na rybí líhni v Pohořelicích. Nejnižších hodnot hmotnosti dosáhli mlíčáci jesetera malého na rybí líhni ve Vodňanech. Nejvyšší i nejnižší objemové hodnoty odebraného spermatu na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčáka byly zjištěny ve Vodňanech. Průměrné objemové hodnoty obou chovů se ale významně nelišily. Porovnáním bylo zjištěno, že objem odebraného spermatu není závislý na hmotnosti dané ryby. Relativní pracovní plodnost se významně lišila i mezi mlíčáky stejné populace. Nejvyšší i nejnižší hodnoty počtu spermií na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčáka byly vypočítány u jesetera malého ve Vodňanech. Průměrné minimální i maximální hodnoty počtu spermií na 1 kg<sup>-1</sup> mlíčáka se velice lišily, z čehož je patrné, že je důležité při výtěru použít větší množství mlíčáků, aby byla zajištěna dostatečná oplozenost jiker. Průměrné hodnoty celkové pracovní plodnosti obou chovů jsou velice podobné a liší se především u konkrétních jedinců jak v chovech, tak i mezi těmito chovy. Z výsledků bylo zjištěno, že celkový počet spermií ve spermatu je závislý na objemu odebraného spermatu. Dále bylo zjištěno, že pracovní plodnost jesetera malého nezávisí na velikosti (hmotnosti) ryby.

Klíčová slova: *Acipenser ruthenus*, Vodňany, Pohořelice, sperma, spermie, plodnost

## 10. Abstract

### **Male Sterlet (*Acipenser ruthenus*) Fertility under Fish Farming Conditions of the Czech Republic**

Currently, fish fertility studies are mainly focused on female fertility. Studies showing fertility of male fish of any kind are missing to a large extent. The main objective of my thesis was to identify what level of fertility is achieved by male sterlet (*Acipenser ruthenus*) in the conditions of fish farming in the Czech Republic. Male fish from the Vodňany farm where the raised population comes from Russia was compared to male fish from Pohořelice where the raised population comes from Danube. The total comparison test involved 49 pieces of fish. Following stripping to collect semen from male fish, the concentration of sperm ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) was measured in a  $1 \text{ ml}^{-1}$  semen sample. Consequently, a sperm count per  $1 \text{ kg}^{-1}$  male fish ( $\cdot 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) and a sperm volume per  $1 \text{ kg}^{-1}$  male fish ( $\text{ml}^{-1}$ ) and a total male fish sperm count ( $\cdot 10^9$ ) were measured.

The highest values of weight identified in male fish was measured in the Pohořelice fish farm. The lowest values of weight was measured in male sterlet of the Vodňany fish farm. The highest as well as lowest volumes of collected semen per  $1 \text{ kg}^{-1}$  male fish were identified in Vodňany. However, the average volumes of both cultures were not significantly different. It was concluded by comparison that collected semena volume does not depend on the weight of said fish. Also, the relative fertility was significantly different between male fish of the same population. The highest and lowest sperm count per  $1 \text{ kg}^{-1}$  male sterlet were identified in Vodňany. The average minimum and maximum sperm counts per  $1 \text{ kg}^{-1}$  male fish were different very much which shows that a greater number of male fish should be used for spawn to ensure sufficient egg fertilization. The average overall fertility values in both cultures are very similar and mainly different in specific specimen of the same culture as well as between those cultures. The results showed that a total sperm count in semen depends on the volume of collected semen. It was further concluded that sterlet fertility does not depend on the size (weight) of fish.

Key words: *Acipenser ruthenus*, Vodňany, Pohořelice, semen, sperm, fertility