

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití polyploidie v akvakultuře**

**Bakalářská práce**

**Zdeněk Velický**

**Akvakultura a péče o vodní ekosystémy**

**Vedoucí práce: Ing. Miloslav Petrtýl, Ph.D.**

**© 2024 ČZU v Praze**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití polyploidie v akvakultuře" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.04.2024

---



## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Miloslavu Petrtýlovi, Ph.D. za vedení mé práce, praktické rady, konzultace, odbornou pomoc, a především za jeho lidský přístup. Dále bych chtěl poděkovat své rodině, přátelům a všem náhodným setkáním, která mě dovedla až k úspěšnému dopsání této bakalářské práce. Velké poděkování závěrem náleží všem, kteří se svou prací zaslouhují o volný a neomezený přístup ke všem vědeckým poznatkům.

# Využití polyploidie v akvakultuře

## Souhrn

Akvakultura je nejrychleji rostoucí odvětví v produkci potravin. V nadcházejících letech bude klíčové zajistit, aby tato produkce byla udržitelná a aby chovy vodních organismů měly co nejmenší dopady na přírodní ekosystémy. Jedním z nástrojů, kterým lze tyto dopady snížit je indukce triploidie. Bakalářská práce se zabývá tématem využití polyploidie v akvakultuře. Stručně popisuje definici a typy polyploidie, jejich kontext během evoluce a přirozený výskyt v rámci domény eukaryota. Práce se primárně zaměřuje na metody indukce triploidie a tetraploidie u ryb, měkkýšů a koryšů. Čtenář je obeznámen s dopady triploidie a tetraploidie na vodní organismy a způsoby jakými se identifikují jejich stupně ploidie. V samém závěru práce jsou zmíněny nejvýznamnější příklady využití polyploidie v současné i budoucí akvakultuře.

**Klíčová slova:** biotechnologie, GMO, triploidie, tetraploidie, akvakultura

# **Ployploidy in aquaculture**

## **Summary**

Aquaculture is the fastest growing sector of food production. Ensuring that this production is sustainable and that aquaculture has the least impact on natural ecosystems will be crucial in the coming years. Induction of triploidy is a tool that can be used to reduce these impacts. This bachelor thesis deals with the use of ployploidy in aquaculture. It briefly describes the definition and types of ployploidy, their context during evolution and their natural occurrence within the eukaryotic domain. Emphasis is placed on methods of inducing triploidy and tetraploidy in fish, molluscs and crustaceans. The reader is introduced to the effects of triploidy and tetraploidy on organisms and the methods to determine their ploidy level. The main examples of the use of ployploidy in current and future aquaculture are given at the end of the thesis.

**Keywords:** biotechnology, GMO, triploidy, tetraploidy, aquaculture

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Polyploidie</b>	<b>3</b>
3.1.1	Definice polyploidie	3
3.1.2	Autopolyploidie	3
3.1.3	Alopolyploidie	4
3.1.4	Přirozený výskyt polyploidie	5
3.1.5	Polyploidie a evoluce	6
3.1.6	Důvody pro využití polyploidie v akvakultuře	7
<b>3.2</b>	<b>Indukovaná polyploidie</b>	<b>9</b>
3.2.1	Metody fyzikální indukce	9
3.2.1.1	Teplotní šok	9
3.2.1.2	Tlakový šok	10
3.2.1.3	Elektrický šok	11
3.2.2	Metody chemické indukce	11
<b>3.3</b>	<b>Indukce triploidie</b>	<b>13</b>
3.3.1	Indukce u ryb	13
3.3.2	Indukce u měkkýšů a korýšů	14
3.3.3	Dopady triploidie	16
3.3.3.1	Životaschopnost a míra přežití u triploidů	16
3.3.3.2	Růst u triploidů	17
3.3.3.3	Deformace u triploidů	18
3.3.3.4	Změny v chování u triploidů	19
3.3.3.5	Reprodukce u triploidů	19
<b>3.4</b>	<b>Indukce tetraploidie</b>	<b>22</b>
3.4.1	Indukce tetraploidie u ryb	22
3.4.2	Indukce tetraploidie u měkkýšů a korýšů	23
3.4.3	Dopady tetraploidie	23
<b>3.5</b>	<b>Způsoby identifikace stupně ploidie</b>	<b>24</b>
<b>3.6</b>	<b>Využití polyploidie v akvakultuře</b>	<b>26</b>
3.6.1	Využití polyploidie u Salmonidae	26
3.6.1.1	Využití triploidie u GMO <i>Salmo salar</i>	27
3.6.2	Využití triploidie u <i>Dicentrarchus labrax</i>	28
3.6.3	Využití triploidie u <i>Scophthalmus maximus</i>	29



3.6.4	Využití polyploidie u <i>Crassostrea gigas</i> .....	30
<b>4</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>Seznam literatury.....</b>	<b>35</b>



# 1 Úvod

Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO) definuje pojem akvakultura jako chov vodních organismů zahrnující ryby, mlže, koryše a vodní fotosyntetizující organismy, nejčastěji řasy. V rámci těchto chovů dochází k vnějším zásahům (krmení, péče o násadu, ochrana před predátory) za účelem zvýšení jejich produkce (FAO, 2023).

Celosvětová produkce vodních organismů v roce 2020 byla odhadnuta na 214 mil. tun, z nichž 58 % (88 mil. tun vodních živočichů + 36 mil. tun fotosyntetizujících organismů) pocházelo z akvakultury a zbylých 42 % (90 mil. tun) z rybolovu (FAO, 2022).

Akvakultura oproti rybolovu za posledních 30 let zažívá nebývalý růst. Zatímco rybolov od konce 80. let stagnuje a kolísá s produkcí mezi 86–93 mil. tun ročně, akvakultura mezi lety 1990–2020 rostla meziročně průměrně o 6,7 %, respektive o 609 % za 30 let (FAO, 2022). Výše zmíněná čísla tak staví akvakulturu do pozice nejrychleji rostoucího odvětví v produkci potravin (Garlock et al., 2020). Tento růst má však zpomalující trend a mezi roky 2015–2020 představoval průměrný meziroční růst pouhých 3,3 % (FAO, 2022).

Světová populace dle United Nations (2022) v roce 2050 dosáhne 9,7 mld. lidí. Neustále rostoucí populace a touha bohatších vrstev po stále větším množství živočišných proteinů ve své stravě bude způsobovat stále vyšší poptávku po vodních organismech. Navýšení akvakulturní produkce se jeví jako ideální nástroj k uspokojení této poptávky. Navýšení této produkce však musí být provedeno udržitelně, aby nedocházelo ke zvýšeným tlakům a dopadům na přírodní ekosystémy (FAO, 2020).

S navýšením objemu produkce tak bude muset ruku v ruce jít i zefektivnění celého procesu s důrazem na snížení dopadů akvakultury na přírodní ekosystémy. Z tohoto pohledu je důležité se zaměřit na zefektivnění šlechtitelských programů současných i budoucích akvakulturních organismů, zlepšení kvality krmiv a krmného režimu jedinců, vývoj nových vakcín, zlepšení managementu farem a využívání nových biotechnologií (Yu et al., 2022).

Mezi biotechnologie, které by svým využitím v akvakultuře umožnily zefektivnit současnou produkci, patří například genetické modifikace a chromozomové manipulace (Rasmussen, Morrissey, 2007). A právě tématem chromozomových manipulací, přesněji indukovanou polyploidii v akvakultuře se bude zabývat tato práce.

## **2 Cíl práce**

Cílem práce byla tvorba stručného a pro čtenáře srozumitelného kompilátu zabývajícího se tématem využití polyploidie v akvakultuře. Práce měla definovat pojem polyploidie a její význam během evoluce domény eukaryota. Měla popsat způsoby jakými lze polyploidii u ryb, měkkýšů a korýšů indukovat. Seznámit čtenáře se způsoby identifikace stupně ploidie. Popsat důsledky triploidie a tetraploidie na organismy. A především uvést příklady využití polyploidie u organismů v současné akvakultuře.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Polyploidie

Většina eukaryotických organismů (protisté, houby, rostliny, živočichové) se rozmnožuje pohlavně (Dimijian, 2017). Jejich genomy se skládají ze dvou haploidních ( $1n$ ) sad chromozomů jejich rodičů. Jedna sada pochází od otce (spermie) a druhá od matky (vajíčko) (Arai, Fujimoto, 2018). Každá nová generace vždy vzniká splynutím těchto dvou pohlavních buněk. Během splývání pohlavních buněk, popřípadě později během ontogeneze organismu, může docházet k chybám buněčného dělení (Van de Peer et al., 2017). Jednou z takovýchto chyb buněčného dělení je událost, při které se množství genetického materiálu v buňce znásobí. Tento fenomén je znám pod obecným názvem polyploidie.

#### 3.1.1 Definice polyploidie

Polyploidie (celogenomová duplikace, WGD – z angl. „whole genome duplication“) (Soltis et al., 2010) je dědičný stav (Comai, 2005), při kterém se v buňkách organismu nachází jedna nebo více nadpočetných sad chromozomů oproti počtu, který se v přírodě u daného druhu vyskytuje nejčastěji (Piferrer et al., 2009).

Jedince s nadpočetnými sadami chromozomů nazýváme na základě jejich stupně ploidie (počtu kompletních sad chromozomů v jádře buňky). Organismus s 3 kompletními sadami ( $3n$ ) je označován jako triploid, s 4 sadami ( $4n$ ) jako tetraploid, s 5 ( $5n$ ) jako pentaploid atd (Arai, Fujimoto, 2018).

Polyploidi se dělí zpravidla do dvou kategorií, na autopolyploidy a alopolyploidy. Toto členění polyploidů je odvozeno na základě původu nadpočetných chromozomových sad, které se v jejich genomu vyskytují (Ramsey, Schemske, 2002).

#### 3.1.2 Autopolyploidie

Jakýkoliv polyploid, který získal jednu nebo více nadpočetných sad chromozomů kopií svého vlastního genomu, je označován jako autopolyploid (Choleva, Janko, 2013). Předpona „auto“ před hodnotou stupně ploidie tedy poukazuje na to, že polyploidní genom tohoto jedince je složen z více vlastních kopií chromozomových sad.

Pro ilustraci využití tohoto názvosloví v praxi lze uvést závěr jedné rutinní cytogenetické analýzy na řece Mojiguaçu v Brazílii. Fernandes-Matioli et al. (2014) během této analýzy zachytili jednoho jedince paúhořovce příčnopruhého (*Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758)), v jehož genomu se nacházely tři namísto běžných dvou sad chromozomů. Během analýzy těchto sad bylo prokázáno, že dvě ze tří pocházely od matky a zbylá od otce stejného živočišného druhu. Takovýto jedinec byl na základě těchto informací o původu chromozomových sad označen jako autotriploid.

K vzniku spontánní autopolyploidie, může docházet mnoha způsoby, nejčastěji však následujícími: 1) selháním dělení buněk zárodečné linie po replikaci DNA při mitóze v brzkém stádiu zygoty; 2) produkcí a oplodněním neredukovaných ( $2n$ ) gamet (častěji neredukovaná

vajíčka nežli spermie); 3) polyspermií – oplodněním vajíčka více než jednou spermií (Otto, Whitton, 2000).

### 3.1.3 Alopolyloidie

Alopolyloidie je typ polyloidie, který vzniká důsledkem mezirodové nebo mezidruhové hybridizace (křížením) (Piferrer et al., 2009). Předpona „alo“ před hodnotou stupně ploidie de facto poukazuje na to, že polyloidní genom tohoto jedince je složen z chromozomových sad více živočišných druhů.

Hybridizace je mezi živočišnými druhy běžným jevem (Mallet, 2005). U ryb k hybridizacím dochází nejčastěji ze všech skupin obratlovců (Rahman et al., 2019). Hybridizace jsou často katalyzátorem speciace a evolučních novinek (Mallet, 2007).

Jedinci vzniklí křížením dvou živočišných druhů často vykazují potíže během gametogeneze (Choleva, Janko, 2013). U hybridů dochází k problémům buněčného dělení během párování homologů v průběhu meiózy. Důsledkem těchto potíží je úplné znemožnění gametogeneze nebo produkce neredukovaných ( $2n$ ) gamet (Ramsey, Schemske, 2002).

Pokud dojde ke zpětnému křížení takovéto neredukované diploidní gamety s haploidní gametou jednoho z rodičovských druhů, vznikne alotriploid (Choleva, Janko, 2013). Tento jedinec je však ve většině případů neplodný (Ramsey, Schemske, 2002), nebo se rozmnožuje asexuálně (Flajšhans, Ráb, 2013). Pokud se rozmnožuje asexuálně, nejčastěji se jedná o partenogenezi, gynogenezi a hybridogenezi, jejichž výsledkem je buď klonální (partenogeneze, gynogeneze) nebo hemiklonální (hybridogeneze) dědičnost (Ráb et al., 2007).

V případě vzniku alotriploida, který se rozmnožuje klonálně popřípadě hemiklonálně, vzniká defacto nový živočišný druh. U karasů stříbřitých (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) a sekavců z rodu *Cobitis* žijících v Evropě byly zaznamenány početné klonálně i hemiklonálně množící se populace (Ráb, 2003; Kalous, 2013). Takovéto populace mohou v přírodních ekosystémech napáchat obrovské škody.

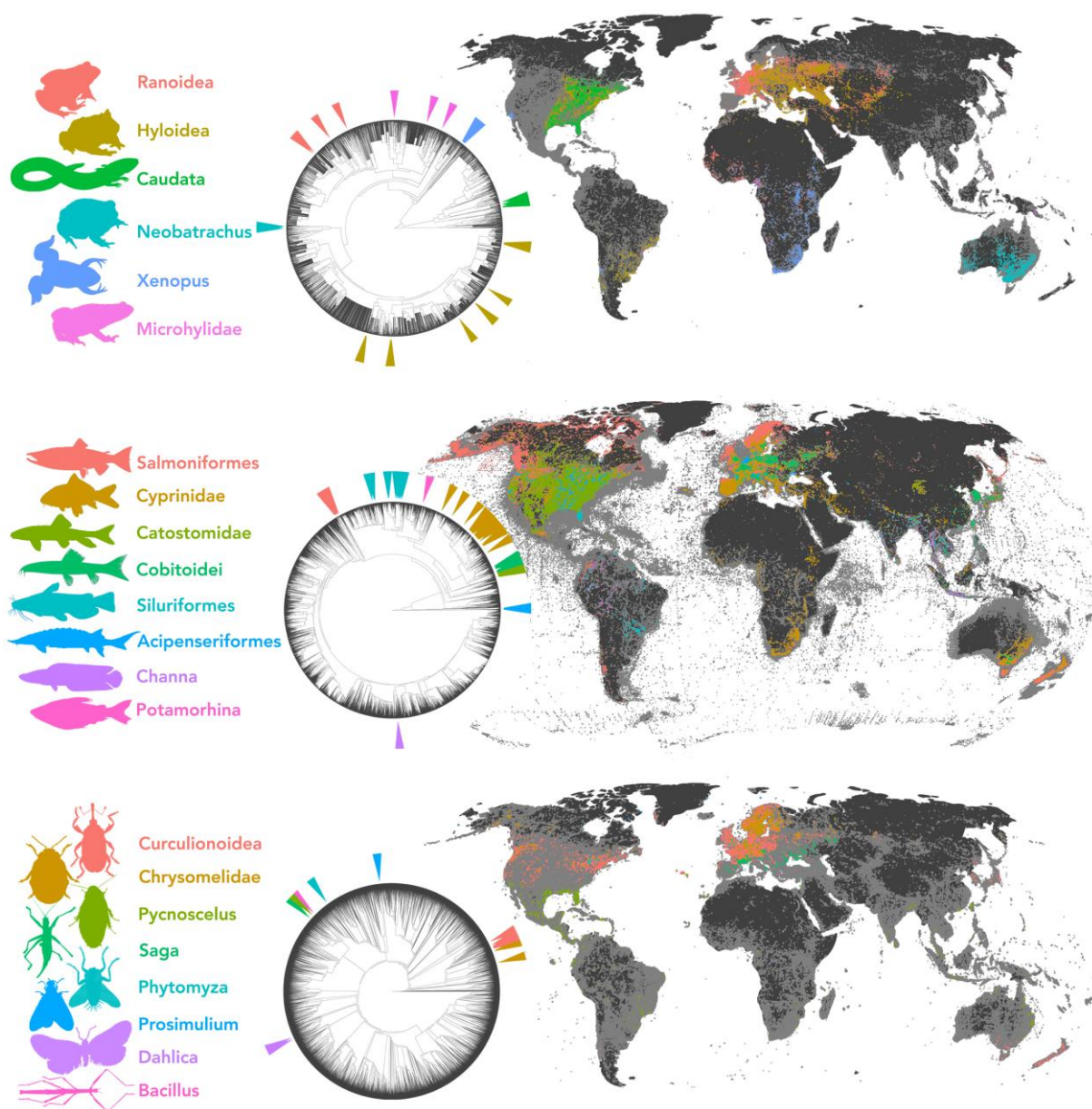
Gynogeneticky množící se *C. gibelio* je v současnosti problematickým druhem na mnoha místech světa včetně České republiky. Gynogeneticky množící se triploidní samice karasů využívají spermie samců pouze k aktivaci vývoje svých neredukovaných vajíček, z kterých vznikají klony matky (Kalous, 2013). Veškerí potomci jsou důsledkem tohoto asexuálního typu rozmnožování samicemi, což nadále umožňuje jejich rychlejší množení a konkurování původním druhům ekosystémů do kterých se rozšiřují. V České republice tito jedinci představují největší hrozbu pro původního karase obecného (*Carassius carassius* (Linnaeus, 1758)).

V přirozených podmínkách nedochází ke vzniku pouze alotriploidie, ale také ke vzniku spontánní alotetraploidie, a to buď v průběhu jedné nebo dvou generací. Vznik alotetraploida během jedné generace je možný v případě, kdy dojde ke křížení dvou živočišných druhů následované endoreduplikací během prvního mitotického dělení zygoty (Choleva, Janko, 2013). Alternativou vzniku spontánní alotetraploidie, ke které jsou však zapotřebí dvě generace, je splnutí dvou neredukovaných gamet hybridních rodičů.

### 3.1.4 Přirozený výskyt polyploidie

Přirozený výskyt polyploidie byl zdokumentován napříč celou doménou eukaryota (Husband et al., 2013). Rostliny oproti ostatním eukaryotům, jsou velmi tolerantní na zvýšený obsah DNA ve svém genomu (Trojak-Goluch et al., 2021), a proto je u nich výskyt polyploidů mnohem častější.

Nejčastěji je polyploidie dokumentována u suchozemských rostlin (Husband et al., 2013). Například u krytosemenných rostlin je pravděpodobnost výskytu polyploidie uváděna v poměru 1:100 000 (Ramsey, Schemske, 1998).



**Obrázek 1** - *Fylogenetický a geografický výskyt polyploidů. Polyploidi jsou na mapách a v kruhových kladogramech zvýrazněni a zabarveni podle taxonů. Šedé tečky a nezabarvená plocha podkladové mapy představují diploidy.; zdroj: (David, 2022)*

Mezi zástupci živočichů, konkrétněji u obratlovců, je výskyt polyploidie nejčastější u obojživelníků a ryb (Mable et al., 2011). U ryb je výskyt polyploidie až překvapivě častý (Leggatt, Iwama, 2003). U jeseterů a veslonosů je polyploidie běžná, a napříč těmito taxonomickými skupinami se vyskytuje minimálně posledních 200 mil. let (Birstein, DeSalle, 1998). Mezi zástupci jeseterů se nachází i pomyslný „rekordman“ v počtu chromozomových sad, jeseter krátkorypý (*Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818), v jehož genomu se jich vyskytuje celkem 12 ( $12n$ –dodekaploid) (Kim et al., 2005).

U skupin obratlovců jako jsou ptáci a savci nenajdeme v přirozeném prostředí žádného životaschopného polyploidního zástupce (David, 2022). K vzniku polyploide u těchto skupin nicméně dochází, ale zpravidla tito jedinci nejsou schopni dokončit ontogenetický vývoj (Otto, 2007).

Přirozený vznik polyploidie je závislý na vnějších faktorech. Nízká teplota, její prudké výkyvy nebo radiace, zvyšují pravděpodobnost jejího vzniku (Song et al., 2012). Geograficky je výskyt polyploidů soustředěn zejména mimo tropické oblasti (David, 2022), jak je patrné na obrázku 1. Jejich relativní výskyt oproti diploidním protějškům je vyšší v biomech mírného a polárního pásu. Za jednu z nejvíce bohatých oblastí na výskyt polyploidních organismů se považuje Arktida (Brochmann et al., 2004).

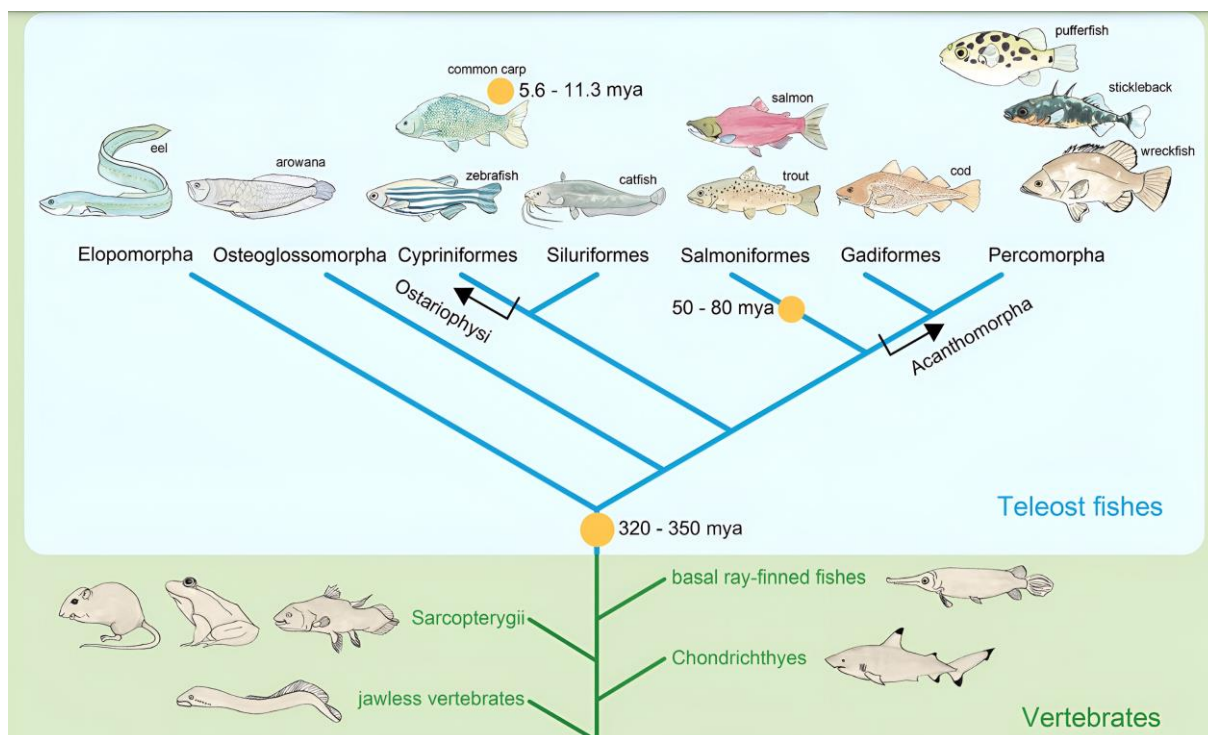
### 3.1.5 Polyploidie a evoluce

U rybových obratlovců sehrála polyploidie opakovaně významnou roli během jejich evoluce a diverzifikace (Leggatt, Iwama, 2003). Nové živočišné druhy obvykle vznikají postupným hromaděním vhodných genových mutací po mnoho generací (Choleva, Janko, 2013). Polyploidie může posloužit jako zkratka evoluce, kterou lze přeskocit mnohdy až miliony let trvající procesy, vedoucí ke speciaci druhů (Coyne, 1992).

Důkazem takovýchto evolučních zkratk může být většina dnes žijících rostlin. Odhaduje se, že až 70 % z nich jsou paleopolyploidi (Hegarty, Hiscock, 2007), jedinci, kteří vznikli z polyploidního předka, avšak během evoluce u nich došlo k opětovné rediploidizaci (Du et al., 2020). U taxonu krytosemenných rostlin se předpokládá, že právě dávná polyploidizace byla hlavní evoluční silou vedoucí k dnešnímu druhovému bohatství této skupiny (Soltis et al., 2009). Dávné polyploidizace a jejich následky nejsou specifické pouze pro rostliny, ale i pro obratlovce a zejména pro ryby.

Radiaci nadřádu kostnatých ryb (Teleostei), který představuje 99,8 % dnes žijících paprskoploutvých ryb (Actinopterygii) a téměř 50 % všech obratlovců (Braasch, Postlethwait, 2012), předcházela celkem 3 kola celogenomové duplikace (polyploidizace) (Singh, Isambert, 2019). U ekonomicky významných druhů ryb chovaných v akvakultuře, jako jsou zástupci čeledí lososovití (Salmonidae) a kaprovití (Cyprinidae), je dnes obecně přijímáno, že u nich později během evoluce došlo ještě k další, dodatečné 4. polyploidizaci, viz Obrázek 2 (Xu et al., 2014).





**Obrázek 2** - Zjednodušená fylogeneze kostnatých ryb. Linie kostnatých ryb se oddělila od bazálních paprskoploutvých ryb a začala se rozrůstat po celogenomové duplikaci (WGD), která proběhla před 320-350 miliony let. K dalším WGD došlo na bázi lososovitých ryb před 50-80 mil. let a u blízkého příbuzného předka kapra obecného před 5,6-11,3 mil. let.; zdroj: (Glasauer, Neuhauss, 2014), rozlišení obrázku zvětšeno za pomoci nástroje pixelcut.ai

Glasauer a Neuhauss (2014) se domnívají, že existuje příčinná souvislost mezi těmito proběhlými celogenomovými duplikacemi a evolučním úspěchem ryb. Celogenomové duplikace, ke kterým během evoluce ryb docházelo by tak mohly být důvodem, díky kterému se ryby staly nejpočetnější a nejpestřejší skupinou obratlovců (Cañestro et al., 2013).

### 3.1.6 Důvody pro využití polyploidie v akvakultuře

Vznik polyploidie s sebou nese pro zasažený organismus řadu výhod i nevýhod. Nejvýznamnějšími negativními dopady polyploidie na organismus jsou: narušení buněčné architektury, potenciální potíže během meiózy (především u druhů s lichým počtem chromozomových sad) a epigenetická nestabilita (Zhou, Gui, 2017). Na straně druhé, vznik polyploidie přináší v určitých případech i řadu výhod jako je: heterozní efekt (Comai, 2005), ochrana před účinky škodlivých recesivních alel a genová nadbytečnost přinášející genetický materiál pro budoucí potenciální rozrůznění funkcí genů (Otto, 2007).

Ať už výše zmíněné negativní či pozitivní vlivy polyploidie, umožňují u řady akvakulturně chovaných druhů vzniku mnoha ekonomicky výhodných vlastností. Nejdůležitější z nich jsou neplodnost, rychlejší růst, větší přizpůsobivost a odolnost vůči chorobám (Zhou, Gui, 2017). Ryby a měkkýši jsou navíc skvělými adepty k chromozomovým manipulacím, protože produkují obrovské množství vajíček, která ovulují mimo svou tělní dutinu (Piferrer et al., 2009). Tyto vlastnosti umožňují snadný zisk velkého množství gamet

k produkci dostatečného množství polyploidní násady s minimálními dopady na mateřské a otcovské jedince.

## 3.2 Indukovaná polyploidie

Umělá indukce (vyvolání) polyploidie je v zemědělství zcela běžnou praktikou, a to především u rostlin (Piferrer et al., 2009). Mezi zástupce polyploidních linií rostlin určených pro lidskou spotřebu se řadí například banány ( $3n$ ), citrusy ( $3n$ ), brambory ( $4n$ ), tabák ( $4n$ ), obilí ( $6n$ ), kiwi ( $6n$ ) a jahody ( $8n$ ) (Piferrer et al., 2009). Využití polyploidie však není limitované jen pro rostlinnou produkci, ale nachází své využití i v akvakultuře k produkci rychleji rostoucích triploidních a tetraploidních ryb a měkkýšů (Flajšhans, Ráb, 2013).

K indukci polyploidie se využívají fyzikální nebo chemické zásahy určené k znemožnění prvního buněčného dělení oplodněného vajíčka (Piferrer et al., 2009).

Oplodněné vajíčko je připraveno rozdělit svůj duplikovaný genetický materiál do dvou dceřiných buněk. Vnější zásahem, ať už fyzickým nebo chemickým dochází k narušení tohoto procesu dělení a oplodněné vajíčko si ponechává veškerý genetický materiál určený pro dceřiné buňky a stává se polyploidním. Indukce polyploidie má svá specifika u rostlin i u živočichů. V následujících kapitolách z tohoto důvodu budou popsány pouze metody indukce, které jsou svým využitím relevantní v akvakultuře.

### 3.2.1 Metody fyzikální indukce

Metody fyzikální indukce jsou obecně nejúspěšnější a nejdříve využívané metody k indukci polyploidie (Piferrer et al., 2009). Patří mezi ně aplikace teplotního (Chourrout, 1984), tlakového (Xu et al., 2008) a elektrického šoku (Cardona-Costa et al., 2010).

#### 3.2.1.1 Teplotní šok

Při metodě teplotních šoků se využívá prudkého zahřátí (Garrido-Ramos et al., 1996) nebo zchlazení (Felip et al., 1997) oplozených jiker v roztoku po předem empiricky zjištěný čas. Pro dosažení co nejvyšší úspěšnosti vyvolání polyploidie je potřeba dodržet protokoly, které jsou druhově specifické (Piferrer, 2003).

Metoda teplotního šoku je v akvakultuře rozšířená, a to především z důvodu nízkých vstupních nákladů. K produkci polyploidních jedinců touto metodou není zapotřebí žádného specializovaného vybavení (Dubé et al., 1991). V praxi ale tato metoda málokdy dosahuje 100% úspěšnosti. Častým problémem způsobujícím neuspokojivé výsledky této metody je nerovnoměrné zahřátí nebo zchlazení všech vajíček na požadovanou teplotu (Benfey, 2009).

Pro úspěšnou indukci polyploidie je zapotřebí dodržet všechny parametry uvedené v protokolu pro daný druh. Nejdůležitějšími proměnnými v protokolech v posloupnosti od nejdůležitější po méně důležité jsou: 1) načasování šoku od momentu oplození vajíčka; 2) cílová teplota pro vyvolání teplotního šoku a 3) doba trvání šoku (Felip et al., 1997).

Garrido-Ramos et al. (1996) uvádí jako další důležitou proměnnou i salinitu roztoku, ve kterém se indukce polyploidie provádí. Salinita ovlivňuje hustotu roztoku. Při vyšší salinitě vajíčka v roztoku plovou, a nejsou tak ponořena celým povrchem v roztoku, což může vést k nerovnoměrnému zahřátí vajíček.

Dalšími klíčovými parametry, od kterých se odvíjí úspěšnost procedury, jsou kvalita vajíček (Kjørsvik et al., 1990) a teplota prostředí, ve kterém jsou oplodněná (Piferrer et al., 2009). U ryb (Ojanguren, Braña, 2003) a mlžů totiž teplota vnějšího prostředí ovlivňuje rychlost embryonálního vývoje a míru přežití (Piferrer et al., 2009).

V teplejším prostředí je embryonální vývoj rychlejší. Proto je při načasování šoku naprosto klíčové brát ohled na teplotu vody roztoku, ve které byla vajíčka oplodněna, a to především u rychle se vyvíjejících vajíček teplomilných druhů (Piferrer et al., 2009).

K standardizaci načasování šoku indukce polyploidie se využívá jednotka relativního embryonálního stáří  $\tau_0$  (Tau 0), která odpovídá době jednoho mitotického cyklu zygoty za určité teploty (Gomelsky, 2003). Pokud je známo, že optimální načasování šoku u kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) při teplotě prostředí 20 °C je 6 minut ( $\tau_0 = 0,2$ ) od okamžiku oplodnění (Gomelsky, 2003), je díky znalosti  $\tau_0$  při této teplotě možné dopočítat optimální načasování indukce teplotním šokem pro jakékoliv jiné experimentální teploty (Piferrer et al., 2009).

Piferrer et al. (2009) ve své přehledové práci shrnují v tabulce hodnoty z protokolů indukce polyploidie pro řadu akvakulturně významných ryb a měkkýšů. Hodnoty se mezi jednotlivými druhy značně liší. Výčet níže je zapotřebí brát pouze jako ilustrativní. Nerozlišuje mezi rybami a měkkýši, natož mezi teplomilnými a studenomilnými druhy.

Při metodě šoku chladem je ideálním načasování indukce polyploidie v rozmezí 2–40 minut od oplodnění vajíčka, s cílovou teplotou šoku -1–5 °C po dobu trvání 2 min–3 h. U indukce polyploidie zahřátím je načasování indukce stejné, mezi 2–40 minutami, cílová teplota šoku má však znatelně větší rozpětí a kolísá mezi 24–41 °C, a to po dobu 45 s–25 min (Piferrer et al., 2009).

### 3.2.1.2 Tlakový šok

Tlakové šoky spočívají v přechodném a náhlém navýšení hydrostatického tlaku na oplodněná vajíčka (Piferrer et al., 2009). Tato metoda je v praxi používána častěji než metoda teplotního šoku. Dosažení 100% úspěšnosti procedury je pravděpodobnější (Benfey, 2009) a navíc bylo zjištěno, že larvy vzniklé touto metodou ošetření jiker, vykazují nižší úmrtnost v porovnání s ostatními metodami indukce (Maxime, 2008). I přes tyto benefity však není často využívána u menších a středních farem (Hassan et al., 2018), protože si takovéto farmy nemohou dovolit vysoké počáteční investice do přetlakových komor (Nagler, 2019).

Stejně jako u metody teplotního šoku je zapotřebí během indukce dodržovat druhově specifické protokoly. Nejdůležitější proměnné ovlivňující úspěšnost této metody zůstávají stejné jako u teplotního šoku, tedy načasování, intenzita, doba trvání (Felip et al., 1997), kvalita vajíček (Kjørsvik et al., 1990) a teplota prostředí, ve kterém jsou oplodněna (Piferrer et al., 2009).

Piferrer et al. (2009) ve své přehledové práci shrnuje dostupnou literaturu a uvádí, že načasování tlakového šoku u ryb se obvykle pohybuje v rozpětí 2–20 minut po oplození,

intenzita šoku kolísá mezi 58–85 MPa (nejčastěji okolo 62 MPa; 0,1 MPa  $\approx$  1 atm) a to po dobu 2–6 minut. U mlžů, konkrétně u *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), je při teplotě prostředí 20 °C optimální načasování šoku 15 nebo 45 minut (dělení 1. nebo 2. polárního tělíska) od oplodnění, za tlaku 60 MPa po dobu 10–15 minut (Piferrer et al., 2009).

### 3.2.1.3 Elektrický šok

Metoda indukce elektrickým šokem je nejméně využívanou fyzikální metodou. Pro většinu komerčně významných druhů dodnes neexistují řádné protokoly (Hassan et al., 2018). Metoda spočívá v umístění oplozených vajíček mezi dvě elektrody ponořené v roztoku, kterým prochází stejnosměrný nebo střídavý proud (Teskeredžić et al., 1993).

Okomoda et al. (2020) ve svých pokusech na keříčkovcích červenolekých (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) dosáhl za použití stejnosměrného napětí o síle 21 V, po dobu 5 min přibližně 85% úspěšnosti indukce polyploidie. Dřívější pokusy na mlžích, ošetřené v elektrickém poli o síle 600 V cm<sup>-1</sup>, přinesly neuspokojivé výsledky s úspěšností 3–55 % v závislosti na době trvání šoku (Cadoret, 1992). Teskeredžić et al. (1993) ve svých pokusech spojili aplikaci tepelného a elektrického šoku (střídavý proud) a podařilo se jim dosáhnout 100% úspěšnosti zisku polyploidie u lososů (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792)).

Neschopnost dosáhnout 100% indukce polyploidie samotným elektrickým šokem pravděpodobně znamená, že dosavadní protokoly nejsou dostatečně optimalizovány anebo metoda elektrického šoku zkrátka není tak efektivní jako metody alternativní (Okomoda et al., 2020). Avšak i přes tyto nedostatky by mohlo využití elektrického šoku kombinovaného s jinou fyzikální metodou v budoucnu nalézt uplatnění u menších farem, které si nemohou dovolit dražší spolehlivější metody jako je indukce tlakovým šokem (Hassan et al., 2018).

### 3.2.2 Metody chemické indukce

Chemická indukce spočívá ve využití chemických látek, které svou přítomností v roztoku s oplodněnými vajíčky blokují mitózu nebo meiózu (Guo et al., 2009). Jedná se především o látky jako Cytochalasin-B, 6-dimethylaminopurin, kofein (Thorgaard, 1983), kolchicin (Lidder, Sonnino, 2012) a nokodazol (Yang, Guo, 2006). Metoda chemické indukce najde své využití především u mlžů (Guo et al., 2009), u ryb se využívají zpravidla metody fyzikální (Arai, Fujimoto, 2019). Chemická indukce u ryb a korýšů obecně dosahuje horších výsledků než fyzikální alternativy. Neuspokojivé výsledky jsou pravděpodobně způsobeny špatným průnikem chemických látek přes chytinózní stěnu vajíček (Guo et al., 2009).

Za nejefektivnější látky chemické indukce lze považovat Cytochalasin-B (CB) a 6-dimethylaminopurin (6DMAP) (Guo et al., 2009). Nejčastěji se však využívá CB, který je velice efektivní při blokaci dělení polárního tělíska během meiózy II (Guo et al., 2009). Využití této metody má svá omezení. Úspěšnost procedury se pohybuje okolo 80 % (Guo et al., 1996). Efektivní dávka látky je 0,1–1 mg/l, a protože CB není rozpustný ve vodě přidává se do roztoku dimethylsulfoxid v koncentraci 1 mg/ml, který umožní jeho rozpustnost (Guo et al., 2009).

Největší nevýhodu CB je jeho toxicita (Guo et al., 1996). V EU je jeho využití pro účely indukce triploidie zakázáno (Piferrer et al., 2009) a v USA úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) zakázal jeho využití v komerčních líhních měkkýšů (Guo et al., 2009). Jako alternativu k využití CB lze použít 6DMAP, který je méně, avšak stále toxický. Je rozpustný ve vodě, jeho efektivní dávka je 75–400  $\mu\text{M/l}$  a dosahuje srovnatelné výsledky jako CB (Guo et al., 2009).

### 3.3 Indukce triploidie

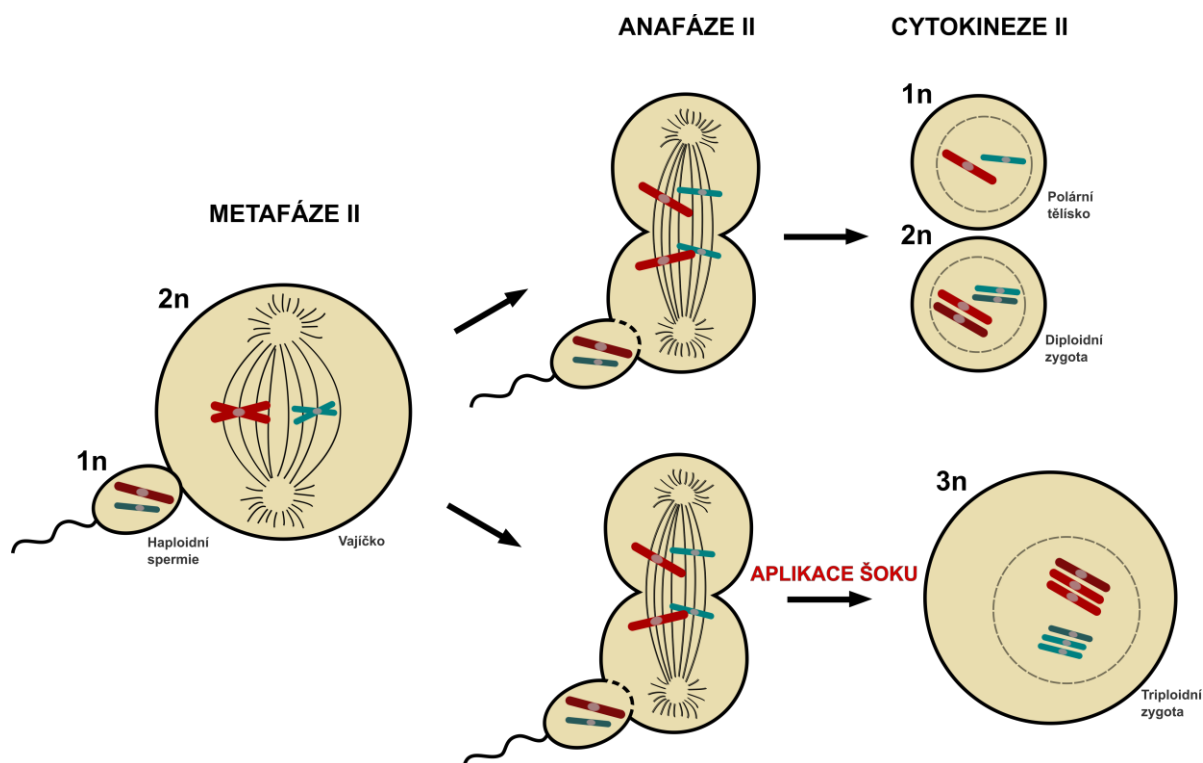
Indukce triploidie je v akvakultuře vnímána především jako alternativní nástroj vyvolání sterility (Piferrer et al., 2009). Spočívá ve správném načasování fyzikálního nebo chemického šoku krátce po splynutí spermie s vajíčkem, který má za následek potlačení dělení polárního tělíska během meiózy I nebo II. Indukovat triploidii je možné pouze u druhů s vnějším oplozením. U druhů, které vypuzují své gamety mimo svou tělní dutinu do vnějšího prostředí (Piferrer et al., 2009).

#### 3.3.1 Indukce u ryb

Oocyty ryb jsou ovulovány během metafáze meiózy II (Colas, Dubé, 1998). Jejich vývoj je po vypuzení z těla mateřského jedince pozastaven a pokračuje až po oplodnění vajíčka spermií. Při standardním průběhu ontogeneze dochází krátce po oplodnění (vstupu spermie do mikropyle) k dokončení metafáze, což za normálních podmínek vyústí v dělení na dvě dceřiné buňky (Arai, Fujimoto, 2019). Jedna dceřiná buňka přijímá genetickou informaci od spermie a dává vzniku zygoty ( $2n$ ) a z druhé se stává polární tělísko ( $1n$ ).

Proces dělení polárního tělíska může být narušen aplikací jednoho z fyzikálních nebo chemických šoků v krátkém časovém okně po oplození vajíčka. Aplikací šoku dochází k narušení mikrotubulů meiotického vřeténka (Piferrer et al., 2009). Narušení dělicího vřeténka znemožňuje rozdělení duplikovaného genetického materiálu oocyty do dvou dceřiných buněk a oplozené vajíčko si tak ponechává obě chromozomové sady matky ( $1n$  pronukleus vajíčka +  $1n$  jádro polárního tělíska) a navíc přijímá jednu od otce ( $1n$  spermie). touto cestou vzniká mateřský triploid (Piferrer et al., 2009), jehož genom se skládá ze 3 chromozomových sad (2 od matky, 1 od otce). Celý proces indukce mateřského triploida je zjednodušeně znázorněn na Obrázku 3.

Indukce triploidie šokem není jedinou metodou vhodnou k získání životaschopných triploidních jedinců. Alternativními metodami k produkci triploidů jsou produkce otcovských triploidů vzniklých křížením  $4n$  samců s  $2n$  samicemi (Piferrer et al., 2009) nebo produkce triploidů dispermií, metodou, při které do haploidního vajíčka pronikají 2 spermie (Ueda et al., 1986).



**Obrázek 3** – Indukce triploidie u ryb. Vajíčka ryb opouští tělo mateřského jedince během metafáze meiózy II. Spermie aktivuje další vývoj vajíčka. Fyzikální nebo chemický šok aplikovaný krátce po oplodnění může potlačit standardní buněčné dělení (vrchní část schématu), čímž zamezí rovnoměrné rozdělení chromozomů do dvou dceřinných buněk. Touto cestou vzniká mateřský triploid. V schématu je vyobrazen hypotetický jedinec  $2n = 4$ . Červené a modré pruhy uvnitř každé buňky znázorňují kondenzované chromozomy.; zdroj: (Piferrer et al., 2009; Snustad, Simmons, 2009), vlastní zpracování

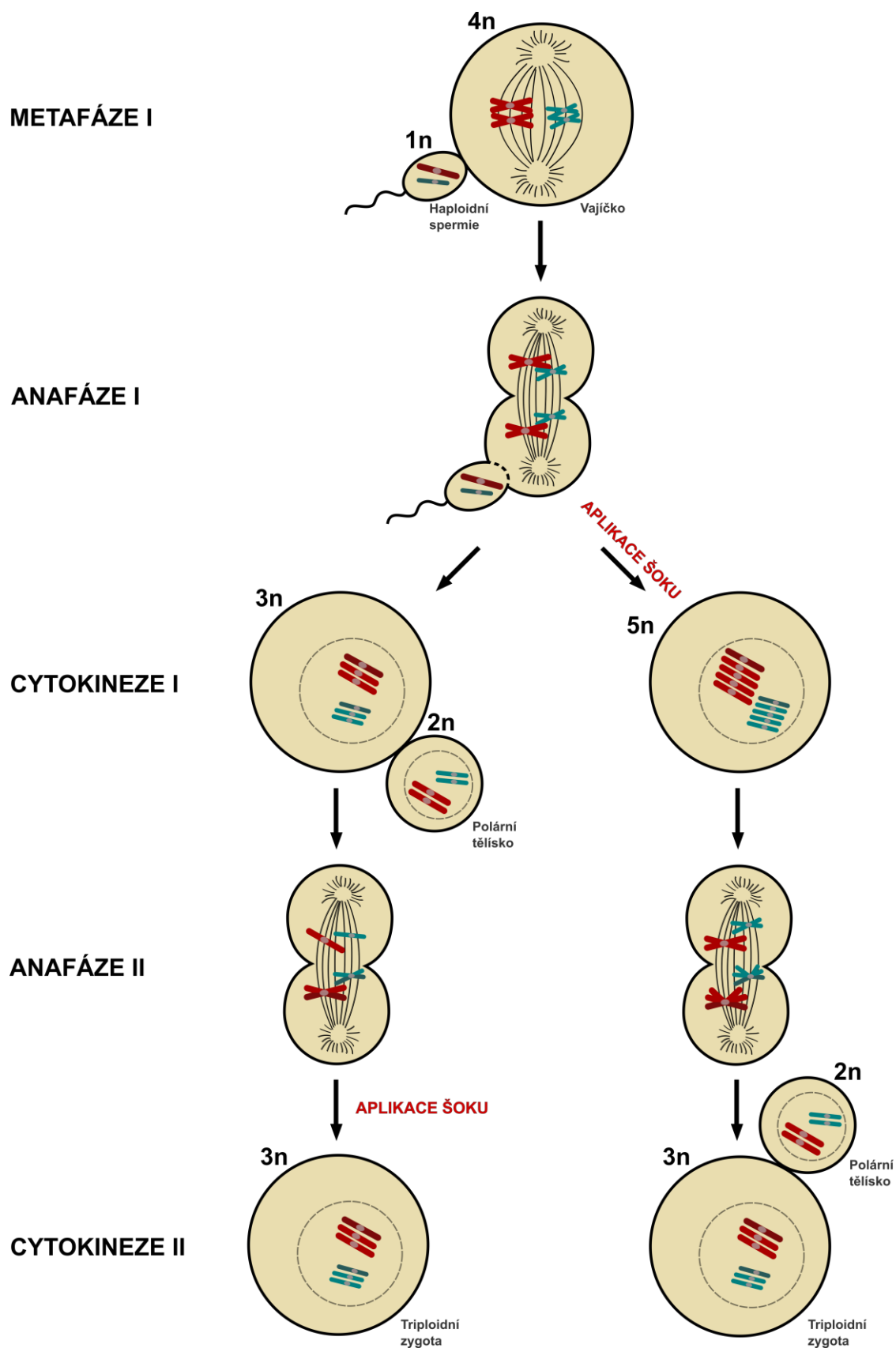
### 3.3.2 Indukce u měkkýšů a koryšů

Měkkýši a koryši narozdíl od ryb ovulují své oocyty v profázi nebo metafázi meiózy I (Colas, Dubé, 1998). Vajíčka po vypuzení z těla mateřského jedince pozastaví svůj vývoj a stejně jako u ryb pokračují ve svém vývoji až po oplození spermii (Piferrer et al., 2009).

Prakticky tak existují dvě vhodná načasování, kdy lze u měkkýšů indukovat triploidii. Šok lze aplikovat během metafáze meiózy I (MI) nebo během metafáze meiózy II (MII) (viz Obrázek 4) (Arai, Fujimoto, 2018). V praxi se šok u měkkýšů obvykle aplikuje až během MII. Inhibice MI není považována za dostatečně efektivní vzhledem k vysoké četnosti výskytu aneuploidních (Guo et al., 2009) a tetraploidních jedinců v polyploidních populacích indukovaných touto metodou (Guo et al., 1992).

V akvakulturních chovech se však v současnosti k získávání triploidních měkkýšů a koryšů využívá častěji alternativní metody křížení  $4n$  samců s  $2n$  samicemi (Guo et al., 2009), která zaručuje snazší a spolehlivější získání velkého množství triploidní násady.





**Obrázek 4 – Indukce triploidie u mlžů.** Vajíčka mlžů opouští tělo mateřského jedince během metafáze meiózy I. Spermie aktivuje další vývoj vajíčka. Fyzikální nebo chemický šok aplikovaný během meiózy I (pravá část schématu) nebo II (levá část schématu) může potlačit standardní buněčné dělení. Potlačením dělení 1. (vpravo) nebo 2. (vlevo) polárního tělíska vzniká mateřský triploid.; zdroj: (Piferrer et al., 2009; Snustad, Simmons, 2009), vlastní zpracování

### 3.3.3 Dopady triploidie

Dopady triploidie u akvakulturně významných druhů byly prostudovány zejména z hlediska životaschopnosti, růstu, deformací, chování a reprodukce. Pokud jde o komerčně významné znaky jedinců, u většiny měkkýšů byl zaznamenán pozitivní vliv triploidie. U ryb však nelze takovéto obecné závěry konstatovat, protože se dopady triploidie mezi různými druhy značně liší (Arai, Fujimoto, 2019).

#### 3.3.3.1 Životaschopnost a míra přežití u triploidů

U triploidních ryb lze očekávat větší životaschopnost z důvodu vyšší heterozygotnosti (Piferrer et al., 2009), která je způsobena přítomností nadpočetné chromozomové sady. Zvýšená životaschopnost je však pouze teoretická a většina triploidů vykazuje vyšší mortalitu. Nižší životaschopnost byla sledována jak v počátečních, tak i pozdějších fázích života triploidních ryb (Piferrer et al., 2009).

Efekty snížené životaschopnosti se prohlubují ještě více, pokud se triploidi chovají ve společných nádržích s diploidy (Piferrer et al., 2009). Z experimentálních pokusů indukce triploidie a následného společného chovu indukovaných jedinců s diploidy byly zaznamenány i takové případy, kdy z původního 84% zastoupení triploidů v chovu, kleslo jejich zastoupení po 17 měsících na pouhých 19 % (Utter et al., 1983).

Předpokládá se, že za zvýšenou mortalitu během počátečních fází života triploidů může samotná procedura, kterou jsou tito jedinci indukováni, nikoliv samotný stav triploidie (Piferrer et al., 2009). Toto tvrzení je založeno na výzkumech triploidů vzniklých křížením  $4n$  samců s  $2n$  samicemi. Takto vzniklí triploidi nevykazovali žádné významné odchylky v životaschopnosti v porovnání s kontrolními diploidy (Chourrout, 1984). Dalším důkazem ve prospěch tohoto tvrzení je zjištění, že neúspěšně triploidizovaní jedinci (tedy diploidi), vykazují společně s úspěšně indukovanými triploidy přibližně stejnou nebo nižší mortalitu než kontrolní neošetření diploidi (Cherfas et al., 1994).

Nižší životaschopnost v pozdějších fázích nelze přisoudit samotnému procesu indukce a přesné důvody snížené životaschopnosti jsou tak nejasné (Piferrer et al., 2009). Jednou z příčin vyšších mortalit v pozdějších fázích života by mohl být nižší počet, zároveň však větších erytrocytů. Menší počet větších erytrocytů poskytuje nižší celkovou plochu dostupnou pro výměnu plynů (objem roste s třetí mocninou, povrch s druhou, čímž dochází k snížení poměru povrch/objem) (Benfey, 1999). Snížení celkové plochy dostupné pro výměnu plynů tak snižuje aerobní kapacitu ryb, čímž by se dala vysvětlit snížená životaschopnost takovýchto jedinců (Benfey, 1999).

Nižší aerobní kapacita u triploidů byla laboratorně prokázána například u sivenů (*Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1814)), avšak jen v případech vyvolání chronického stresu vystavením ryb vysokým teplotám vody (Hyndman et al., 2003). Nižší aerobní kapacita za zvýšených teplot byla pravděpodobně způsobena odlišným teplotním optimem triploidů, jak bylo prokázáno během pozdějších experimentů (Atkins, Benfey, 2008). Vysokým mortalitám triploidů v pro diploidy subletálních podmínkách, by tak pravděpodobně šlo předejít lepším managementem chovů.

Triploidní ryby vykazují stejnou rezistenci vůči patogenům a srovnatelnou citlivost k vakcínám jako diploidní protějšky (Maxime, 2008). U *3n* pstruhů (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) bylo zjištěno, že vykazují nižší výskyt tumorů při vystavení karcinogenům. Nižší výskyt tumorů je pravděpodobně způsobem větším počtem tumor supresorových genů, které triploidi mají díky nadbytečné chromozomové sadě (Thorgaard et al., 1999).

U juvenilních pstruhů (*O. mykiss*) byla zjištěna vysoká korelace triploidie s vyšší regenerací ploutví (Alonso et al., 2000). Výzkumy na lososovitých rybách prokázaly, že intenzita a průběh fyziologických reakcí jsou během manipulace a chovu v zajetí u triploidů srovnatelné s diploidy (Maxime, 2008), přesto jsou triploidní ryby neschopné se vyrovnat s chronickým stresem, a zvláště trpí na špatnou kvalitu vody (Benfey, Biron, 2000).

Ranná stadia triploidních měkkýšů a korýšů (embrya, trochofory a larvy veliger) se potýkají stejně jako triploidní ryby s vyšší mortalitou oproti diploidům. Dospělí měkkýši vykazují větší odolnost vůči stresu (Piferrer et al., 2009), což je opačný jev, než je pozorován u triploidních ryb. U triploidních dospělců ústřice velké (*C. gigas*) byla například zjištěna větší rezistence vůči letní mortalitě (Gagnaire et al., 2006), pozdější výzkumy však toto zjištění vyvracejí (Yang et al., 2018). Letní mortalita je souhrnný termín, který je využíván při objasňování úhynu ústřic v akvakulturních chovech. Tento termín zastřešuje vlivy enviromentální stresu, stresu související s mikrobiálními procesy a stres spojený s gametogenezí a rozmnožováním (Ben-Horin et al., 2024).

Odolnost vůči nemocem nebyla u triploidních mlžů dosud dostatečně prozkoumána a nebyly učiněny žádné obecné závěry. Přesto však lze tvrdit, že triploidní ústřice jsou méně zranitelné vůči patogenům, protože díky svému rychlejšímu růstu (viz kapitola 3.3.3.2) dorůstají tržní velikosti rychleji než diploidi. Stráví tedy ve vodě kratší dobu, čímž se značně snižuje doba, po kterou mohou být vystaveny patogenům (Yang et al., 2018).

### 3.3.3.2 Růst u triploidů

Teoreticky by měl být u triploidních ryb z důvodu většího objemu buněk (gigantismus), a vyšší heterozygotnosti pozorován rychlejší růst a narůstání do celkově větších rozměrů (Piferrer et al., 2009). Výsledky mnoha výzkumu jsou však ohledně tohoto předpokladu rozporuplné a ve většině případů k rychlejšímu růstu ani nabývání větších rozměrů nedochází (Arai, Fujimoto, 2019).

Základním předpokladem pro gigantismus u triploidů je větší objem jejich buněk. Protože u některých organismů existuje korelace mezi velikostí buněk a celkovou velikostí jejich těla, očekávalo se, že triploidní ryby budou vykazovat stejné rysy (Piferrer et al., 2009). V praxi se tento předpoklad nenaplnuje a větší objem buněk je kompenzován redukcí jejich celkového počtu, což vede k zachování stejné velikosti jedince (Swarup, 1959).

Ani předpokládaná zvýšená heterozygotnost ve většině případů nevyústí v zrychlený růst. V genomu triploidního jedince se nachází dvě kopie sad chromozomů původem od jednoho z rodičů a třetí sada od rodiče druhého. Potenciální heterozní efekt by tak měl plynout pouze z nadbytečné chromozomové sady od matky (mateřský triploid) nebo otce (otcovský triploid). Triploidní jedinec může vykazovat heterozní efekt oproti diploidnímu jen za předpokladu, že dojde k rekombinaci těchto nadbytečných, ať už otcovský

nebo mateřských chromozomových sad (Piferrer et al., 2009). Potenciální Heterózní efekt je tedy závislý na rekombinaci chromozomů a zejména na míře s níž byli lokusy takovýchto chromozomů rekombinovány.

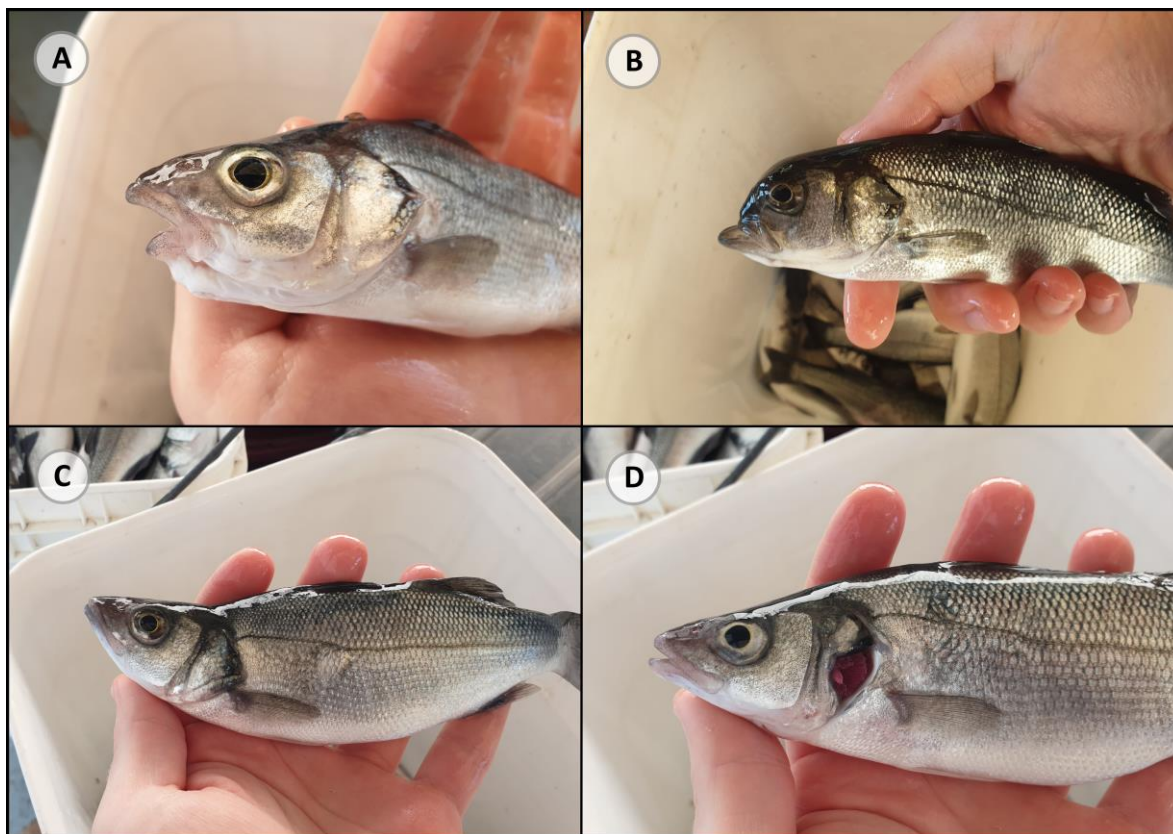
Většina triploidních ryb roste přibližně stejně rychle nebo pomaleji než diploidi (Arai, Fujimoto, 2019). K zrychlení růstu triploidů v porovnání s diploidy, pokud je tedy vůbec pozorován, dochází až po pohlavní dospělosti. Zatímco diploidi v dospělosti investují nemalou část své energie do tvorby gamet a do aktu rozmnožování, triploidní jedinec tu samou energii, z důvodu své sterility, může využít na somatický růst. Často se ale stává, že energie není proměněna v růst svalů, ale je investována do tvorby tukové tkáně, čemuž se dá ale předejít vhodnou úpravou stravovacího režimu (Piferrer et al., 2009).

Během larválních stádií, triploidní měkkýši a někteří korýši rostou přibližně stejnou rychlostí jako diploidi (Guo et al., 2009). Po dokončení larválního stádia se pak rychlost růstu mezi triploidy a diploidy začíná lišit ve prospěch triploidů. Triploidi rostou výrazně rychleji než diploidi a dorůstají celkově větších rozměrů (Piferrer et al., 2009).

U ústřic (*C. gigas*) a u ostatních druhů měkkýšů byl zaznamenán rychlejší růst, a to v některých případech až o 192 %. Celková velikost dospělých jedinců byla větší o 14–150 % v porovnání s diploidy (Yang et al., 2018). Triploidní měkkýši mívají výrazně delší schránky (až o 10 %) a vyšší relativní hmotnost měkkých tkání (Brake et al., 2004). U triploidních korýšů, přesněji u krevet (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798), dochází také k zrychlenému růstu a dorůstání do větších celkových rozměrů dospělých jedinců (Manan, Ikhwanuddin, 2021). U většiny akvakulturně významných druhů korýšů však doposud nebyly dopady triploidie dostatečně prozkoumány, a proto nelze s jistotou tvrdit, že se jedná o obecný trend u celého taxonu.

### 3.3.3.3 Deformace u triploidů

Triploidie je u ryb spojována s častějším výskytem kosterních deformací. U triploidních lososů (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) byl v pokusných chovech zaznamenán výskyt deformací čelistí 7krát častěji, než je běžné u diploidů (Sadler et al., 2001). V rámci stejného pokusu byl u triploidů zjištěn i větší výskyt deformací skřelí (1,3krát) a častější výskyt deformací žaberních lupínek (15krát). Dále byl pozorován snížený Index povrchu žaber, a to i u triploidů nezasazených deformací žaberních lupínek. Snížený index povrchu žaber u daných jedinců způsobuje nižší kapacitu pro výměnu metabolických plynů při vyšší zátěži nebo v suboptimálních podmínkách (Sadler et al., 2001). Příklady výše zmíněných deformací viz Obrázek 5.



**Obrázek 5** – Příklady deformací u mořčáka obecného (*D. labrax*). Na obrázku jsou zachyceny deformace diploidních mořčáků z klecového chovu firmy Cromaris u pobřeží ostrova Ugljan, Chorvatsko (2024). Deformace spodní čelisti (A), deformace horní čelisti (B), deformace páteře (C) a deformace škřelí (D); zdroj: autor

Zvýšená četnost deformací je nechtěným důsledkem triploidie. Snaha o dosažení co nejmenšího výskytu deformací je důležitá nejen z pohledu chovatele, ale také z důvodu welfare (životní pohoda) a akceptace triploidů veřejností (Piferrer et al., 2009).

### 3.3.3.4 Změny v chování u triploidů

Triploidní ryby vykazují změny ve svém chování. Vyskytuje se u nich častěji eroze ploutví, způsobená abnormálními návyky v plavání (Carter et al., 1994). Dále vykazují nižší agresi a schopnost bojovat o potravu ve smíšených chovech s diploidy (Galbreath et al., 1994). Menší agresivita a schopnost bojovat o potravu by mohly být důsledkem sníženého celkového počtu mozkových a sensorových buněk (Maxime, 2008) nebo sterility. Celková nižší agresivita byla zjištěna u triploidní beta bojovnice (*Betta splendens* Regan, 1910), u které se předpokládá, že je způsobena sterilitou (Kavumpurath, Pandian, 1992).

### 3.3.3.5 Reprodukce u triploidů

Triploidní ryby jsou neplodné (Gomelsky, L. Shelton, 2019), toto tvrzení však pro některé druhy neplatí, protože i v pouze triploidních chovech je občas zachycena haploidní gameta (Lee, Donaldson, 2001). Neplodnost ryb je způsobena nadpočetnou sadou chromozomů (Hu et al., 2019), kvůli které nastávají problémy během gametogeneze (Cuñado et al., 2002).

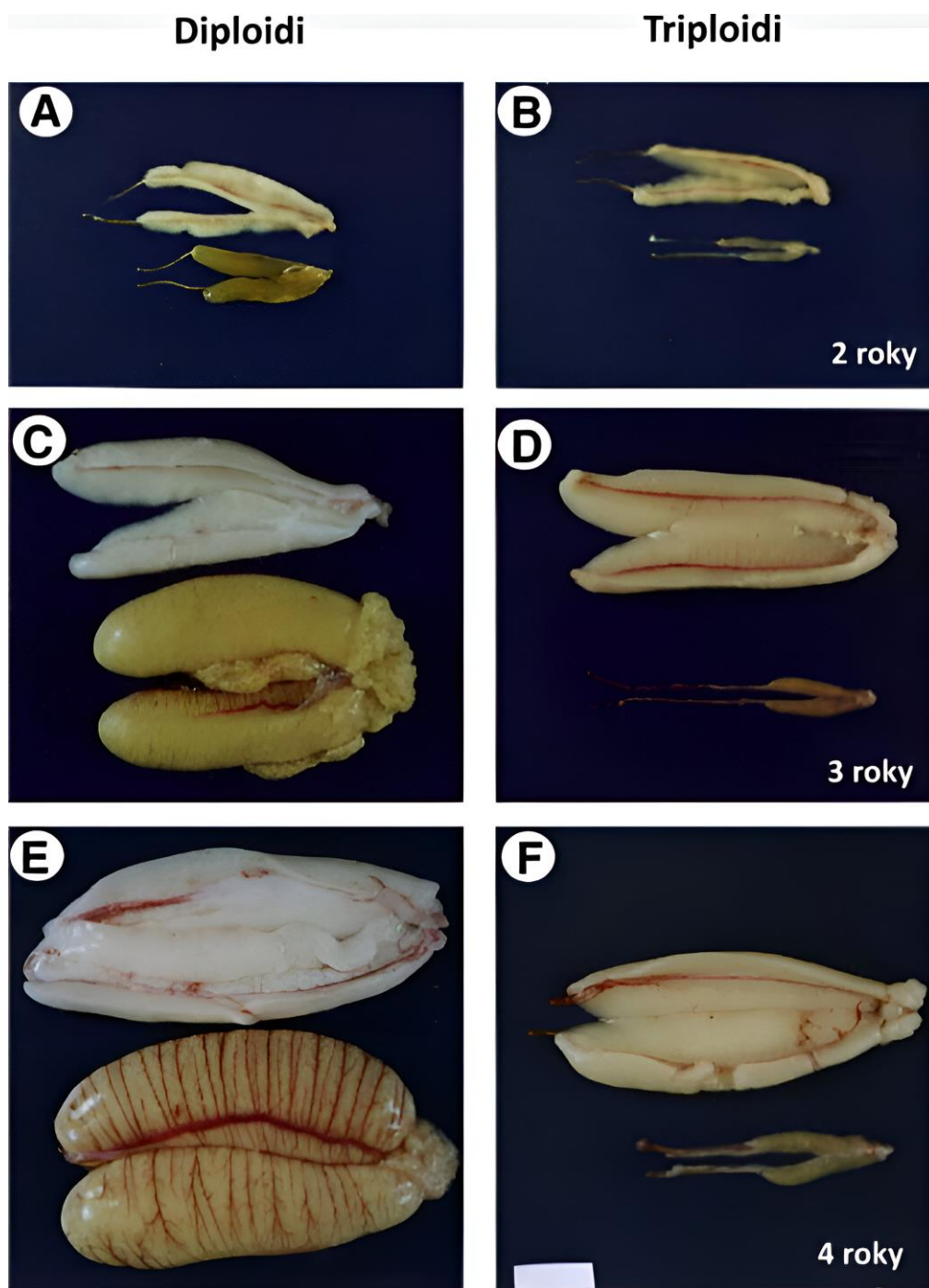
U samic triploidie zamezuje tvorbě žloutku, ke kterému za normálních okolností dochází během přeměny oogonií na oocyty (Benfey, 1999). Z tohoto důvodu dochází u samic k redukci vaječnicků, čímž se snižuje jejich gonadosomatický index. Při usmrcení takováto ryba bude vykazovat navýšení výtěžnosti jatečně opracovaného těla oproti diploidům (Piferrer et al., 2009a).

Z mikroskopického hlediska obsahují vaječníky triploidů velké množství oogonií a malé množství primárních oocytů, které však nejsou schopny úplného dozrání (Benfey, 1999). Z Makroskopického hlediska, jsou vaječníky kvůli absenci žloutků bledější a průhlednější (viz. Obrázek 6), než vaječníky diploidů (Piferrer et al., 2009).

U triploidních samců, i přes narušenou gametogenezi, dorůstají gonády do téměř stejné velikosti (viz. Obrázek 6), jako u diploidních jedinců. Někteří jedinci jsou schopni produkce spermií, které jsou ve většině případů aneuploidní (Piferrer et al., 2009). Gonády samců si zachovávají funkční steroidogenní buňky, a proto se u nich na rozdíl od samic projevují negativní efekty spojené s pohlavním dospíváním jako je změna barvy a chuti masa (Piferrer et al., 2009).

Redukce gonád je u mlžů velice žádanou vlastností, protože umožňuje celoroční prodej takovýchto jedinců (Yang et al., 2018). V triploidních chovech mlžů dochází k častým záchytům haploidních gamet a k samotné reprodukci. Nedochází u nich ke 100% sterilitě jako u ryb, ale ve většině případů pouze k redukci vývoje gonád.

Triploidie u mlžů způsobuje změnu poměru pohlaví a v chovech převažují samci nad samicemi (Brake et al., 2004). U korýšů dochází stejně jako u mlžů k redukci vývoje gonád. U zástupců krevet čeledi Penaeidae dochází k změnám poměru pohlaví ve prospěch samic, což je velice žádaným rysem, protože samice této čeledi dorůstají větších rozměrů než samci (Manan, Ikhwanuddin, 2021).



**Obrázek 6** - Fotografie gonád dospělých diploidních a triploidních samců a samic mořčáka obecného (*D. labrax*), ukazující charakteristické dopady triploidie v různém věku. A a B, dvouleté ryby; C a D, tříleté ryby; E a F, čtyřleté ryby. Na každé fotografii jsou samčí gonády nahoře a vaječníky dole.; zdroj: (Piferrer et al., 2009), přeloženo, , rozlišení obrázku zvětšeno za pomoci nástroje pixelcut.ai

### 3.4 Indukce tetraploidie

Shodně jako u triploidie spočívá metoda indukce tetraploidie v aplikaci chemického nebo fyzikálního šoku o určité síle krátce po splynutí spermie a vajíčka. Tetraploidii, stejně jako triploidii lze indukovat u organismů s vnějším oplozením (Piferrer et al., 2009). Přínos tetraploidů pro akvakulturu spočívá především v jejich produkci diploidních gamet, které pak slouží jako nástroj k dalším manipulacím s ploidí organismů (indukce  $3n$ ,  $5n$ ,  $6n$  a indukce gynogenetických  $2n$ ) (Arai, Fujimoto, 2019).

#### 3.4.1 Indukce tetraploidie u ryb

Dříve se předpokládalo, že indukce tetraploidů spočívá v umělém vyvolání endomitózy (zdvojení chromozomů bez buněčného dělení) prvního mitotického dělení zygoty (Arai, Fujimoto, 2018). Endomitóza se vyvolává aplikací šoku během prvního mitotického dělení zygoty, čímž se zabrání cytokinezi (Flajšhans, Ráb, 2013). Zdvojený genetický materiál se tak nerozdělí do dvou dceřiných buněk a organismus se stává tetraploidním. Tento proces indukce je spojován s extrémně vysokou mortalitou jak v larválních, tak i pozdějších vývojových stádiích jedinců, což znemožňuje efektivní indukci tetraploidie ve velkém měřítku u většiny druhů (Arai, Fujimoto, 2018).

Během experimentálních pokusů indukce tetraploidie, bylo zjištěno, že k tetraploidizaci jedince nedochází při prvním buněčném dělení zygoty, jak se obecně předpokládalo, nýbrž během druhého buněčného dělení obou dceřiných buněk (Zhang, Onozato, 2004).

Po aplikaci šoku během prvního buněčného dělení bylo zjištěno, že dělicí vřeténko se krátce po proceduře zregeneruje a dojde k standardní mitóze. K vzniku tetraploidie došlo až během druhého buněčného cyklu, a to za pomoci vzniku monopolárních, místo standardních bipolárních vřetének v obou dceřiných blastomerách. Existence jediného pólu dělicího vřeténka znemožňuje rozdělení duplikovaných chromozomů do dvou dceřiných buněk a dochází k potlačení buněčného dělení, které vede ke vzniku tetraploidie. Během dalších buněčných cyklů pak pokračuje standardní mitóza (Zhang, Onozato, 2004).

Duplikace chromozomů až během druhého mitotického buněčného dělení zvyšuje pravděpodobnost vzniku diploidně-tetraploidní mosaiky (některé buňky organismu jsou diploidní, jiné tetraploidní) (Piferrer et al., 2009). Mosaicismus může vzniknout v případě, že jedna z blastomer během druhého buněčného dělení vytvoří bipolární, nikoliv monopolární vřeténko, čímž umožní dokončení standardního mitotického dělení a dá vzniku dvěma diploidním buňkám (Zhang, Onozato, 2004). Pokud jsou takovéto diploidní buňky prekurzory buněk zárodečné linie, může zdánlivě tetraploidní jedinec produkovat namísto diploidních, haploidní spermie/vajíčka.



### 3.4.2 Indukce tetraploidie u měkkýšů a koryšů

Indukovat tetraploidní měkkýše a koryše je možné stejným způsobem jako u ryb, a to vyvoláním endomitózy. Tato metoda přímé indukce se u těchto skupin nevyužívá, protože takto vzniklí tetraploidi se obvykle nedožívají déle než larválního stádia (Piferrer et al., 2009).

K produkci tetraploidních měkkýšů a koryšů se využívají  $3n$  vajíčka získaná z triploidních samic, která se oplodňují haploidními spermii. Krátce po oplodnění takovýchto vajíček se aplikuje šok během meiózy I a vznikají tetraploidní jedinci (Arai, Fujimoto, 2018). Avšak ani touto metodou není snadné získat velké populace životaschopných tetraploidů. Hlavními bariérou produkce tetraploidů touto metodou je nedostatek triploidních vajíček a jejich nízká plodnost (Arai, Fujimoto, 2018).

Triploidní samice měkkýšů produkují malé množství vajíček (Piferrer et al., 2009) s extrémně nízkou plodností (obvykle méně než 0,1 %) (Arai, Fujimoto, 2018). K získávání dostatečně velkých populací tetraploidů nenapomáhá ani samotná nízká úspěšnost indukce. V experimentálních pokusech indukce tetraploidních ústřic bylo po dokončení procedury úspěšně tetraploidizováno pouhých 0,05 % jedinců, zbylých 99,95 % jedinců bylo aneuploidních, diploidních, triploidních nebo s mozaicismem (Guo, Allen, 1994a).

### 3.4.3 Dopady tetraploidie

Tetraploidie by měla teoreticky přinášet především tyto výhody: 1) zvýšenou heterozygotnost, způsobující heterozní efekt; 2) genovou nadpočetnost, která napomáhá k zamezení dopadu negativních recesivních alel a 3) nadpočetnost alel vytvářející substrát pro rozrůznění genových funkcí přinášející potenciální evoluční novinky. Většina těchto teoretických benefitů však není v praxi pozorována (Piferrer et al., 2009).

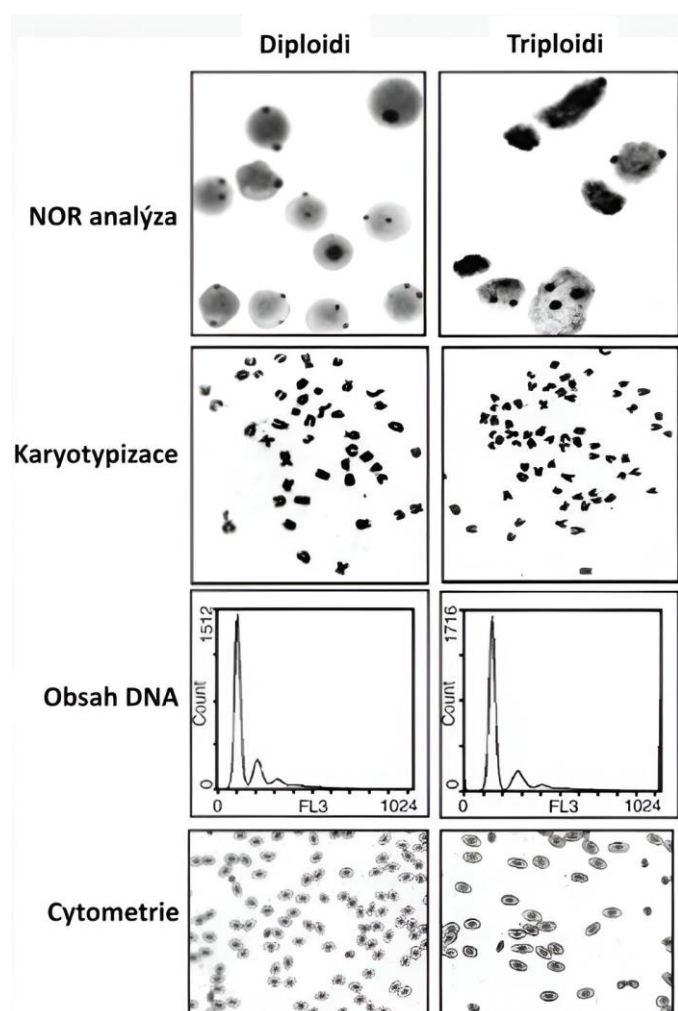
Celkový počet buněk tetraploidů je značně redukován, což přináší řadu problémů s vývojem, a to především u měkkýšů (Piferrer et al., 2009). U tetraploidních jedinců je pozorován pomalejší růst než u diploidů. I v tom nejvíce úspěšném případě indukce životaschopných, plodných pstruhů (Arai, Fujimoto, 2018) je rychlost růstu v porovnání s diploidy 2,5krát pomalejší (Chourrout et al., 1986).

U samců tetraploidů je pozorována snížená plodnost, která je pravděpodobně způsobena větší hlavičkou diploidních spermii. Větší hlavička způsobuje obtíže během pronikání do mikropyle vajíček (Piferrer et al., 2009). Další problémem pozorovaným u  $4n$  samců je produkce haploidních spermii, které v některých případech produkují ve větší míře, než ty diploidní (Arai, Fujimoto, 2019).

### 3.5 Způsoby identifikace stupně ploidie

Indukce polyploidie není vždy dokonalá, část ošetřených organismů zůstává s původní ploidí nebo vznikají aneuploidi a jedinci s mozaikou. Jedinci s jinou, než cílenou ploidí nebo mozaikou, by mohli v chovech způsobovat potíže.

Většinu polyploidních jedinců nelze odlišit od diploidních na základě vzhledu (morfologie, barva, vzor atd.) (Maxime, 2008), proto po experimentální indukci polyploidie nezbyvá nic jiného, než podrobit jedince přesnému stanovení stupně polyploidie za pomoci jedné z laboratorních metod (Piferrer et al., 2009). Mezi ně patří metody přímé jako je karyotypizace, měření obsahu DNA, genotypizace mikrosatelitních markerů, analýza nukleolární organizační oblasti (NOR) viz Obrázek 7 a metody nepřímé, jako je měření velikosti buněk nebo jejich jader (Piferrer et al., 2009).



**Obrázek 7** – Vizualizace metod běžně používaných k identifikaci stupně ploidie u ryb a měkkýšů.; zdroj: (Piferrer et al., 2009), přeloženo, , rozlišení obrázku zvětšeno za pomoci nástroje pixelcut.ai

Každá z těchto metod má řadu výhod a nevýhod. Výběr vhodné metody závisí na potřebné přesnosti, rychlosti určení, a především na dostupných financích (Maxime, 2008). Karyotypizaci lze považovat za jedinou metodu, která je nezpochybnitelná, je však

časově velice náročná, a proto se nehodí k identifikaci velkého množství jedinců (Harrell et al., 1998). Měření obsahu DNA průtokovou cytometrií je nejrychlejší cenově dostupnou metodou k získání přesných výsledků (Maxime, 2008).

Metody nepřímé, jako je například měření velikosti jádra buněk, či dlouhé osy erytrocytů (erytrocyty polyploidů jsou delší) jsou oblíbenou nízkonákladovou metodou (Piferrer et al., 2009), jejich přesnost není ovšem vysoká a řada autorů se domnívá, že velikost buněk u polyploidů se může během několika generací zmenšit na původní velikost diploidů, což by znemožnilo využívání této metody (Gregory, Mable, 2005).

V praxi se z výše zmíněných metod nejčastěji používá přímá metoda měření DNA průtokovou cytometrií, která je standardem v průmyslu živočišné i rostlinné výroby a umožňuje spolehlivou analýzu stupně ploidie stovek jedinců denně (Piferrer et al., 2009).

### 3.6 Využití polyploidie v akvakultuře

Komerční využití polyploidie je v současné akvakultuře omezeno na několik druhů ryb a mlžů, u kterých dopady triploidie umožňují rychlejší, kvalitnější a rentabilnější produkci. Nejvýznamnějším druhem, u kterého je využití polyploidie zcela zásadní je Ústřice velká (*C. gigas*) (Piferrer et al., 2009). Využití polyploidie u korýšů bylo po dlouhou dobu přehlíženo, v současnosti dochází k intenzivnímu výzkumu a propagaci využití indukované triploidie především u zástupců čeledi Penaeidae (Manan, Ikhwanuddin, 2021), kteří představují přibližně 58 % světové produkce korýšů (FAO, 2022).

Je důležité zmínit, že polyploidní organismy nejsou z pohledu Evropských směrnic považovány za geneticky modifikované organismy (GMO) (Council Directive 90/220/EEC, 1990), tudíž jejich chov pro lidskou spotřebu v Evropské unii není zakázán.

V současnosti se v akvakultuře využívá především triploidních jedinců, kteří jsou sterilní a jejich útky nepředstavují významné riziko pro přírodní populace. Triploidie v budoucí akvakultuře bude pravděpodobně nacházet stále širší využití. Její potenciál lze využít při snižování dopadů vyšlechtěných plemen na přírodní populace, a v případě nárůstu obchodu a povolení GMO v Evropě bude sloužit jako nástroj k zamezení jejich reprodukce.

#### 3.6.1 Využití polyploidie u Salmonidae

Čeď Salmonidae (lososovití) z pohledu současné taxonomie zahrnuje 3 podčeledi (Coregoninae, Thymallinae, Salmoninae), 11 rodů a 66 druhů, jejichž přirozený výskyt je omezen na severní polokouli (Nelson et al., 2016). V akvakultuře jsou nejčastěji chováni zástupci rodů *Oncorhynchus* a *Salmo*, zejména pstruh duhový (*O. mykiss*) a losos obecný (*S. salar*).

Historie akvakulturních chovů u těchto jedinců začíná v nedávné době. V 50. letech 20. století u pstruhů a v 60. u lososů (Nagler, 2019). Přesto za pomoci šlechtitelských programů, které začali v 70. letech, bylo dosaženo u těchto druhů vysoké úrovně prošlechtění a lze je v současnosti považovat za domestikovaná zvířata (Teletchea, Fontaine, 2014). Celosvětová produkce lososů v roce 2020 dosáhla 2 719 600 tun a u pstruhů 220 100 tun (FAO, 2022).

K indukci triploidů u čeledi Salmonidae se využívá zejména tlakového a teplotního šoku zahřátím. Ostatní metody, především chemické se, v praxi nevyužívají, protože jimi není dosahováno dostatečné míry úspěšnosti (Nagler, 2019).

Původně se očekávalo, že přínos triploidů pro akvakulturu bude spočívat ve sterilních samicích (většina odvětví je zaměřena na chov samic), které by rostly rychleji a měly větší jateční výtěžnost (Nagler, 2019). V praxi však u autotriploidních lososů k zrychlenému růstu nedochází a využití alotriploidů, kteří vykazují vlastnosti užitečné pro akvakulturní chov, není doposud rozšířeno (Nagler, 2019).

V současné akvakultuře se využívá triploidie v chovech pstruhů (*Oncorhynchus mykiss*). Zvýšená celoroční poptávka po filetech pstruhů způsobila, že i přes o 10–15 %

pomalejší růst triploidů, zvýšených požadavcích na kvalitu a okysličení vody se farmářům z důvodu obav o udržení svého postavení na trhu a potenciálních ekonomických ztrát, vyplatí chovat právě triploidy namísto diploidů (Piferrer et al., 2009).

Diploidní pstruzi v akvakulturních chovech dospívají ve věku 14–16 měsíců (Piferrer et al., 2009). Pohlavní dospívání zpomaluje růst ryby a zhoršuje kvalitu jejího masa, což znemožňuje jeho prodej. Nevýhody chovu triploidů jsou pak převáženy možností prodávat filety po celý rok (Piferrer et al., 2009), což snižuje riziko ztráty tržního podílu a s ním spojené ekonomické ztráty.

Triploidní salmonidi nachází své využití během zarybňovacích programů sladkých vod (Nagler, 2019). Vysazují se např. triploidi pstruhů (*O. mykiss* a *Salmo trutta* Linnaeus, 1758), sivenů (*Salvelinus fontinalis* a *Salvelinus alpinus* Linnaeus, 1758) v zemích jako je Francie, Spojené Království, Německo a Rakousko (Piferrer et al., 2009). Triploidní jedinci se nemohou rozmnožovat, křížit s příbuznými jedinci, ani ustanovovat nové populace (Thresher et al., 2014). Slouží pak jako způsob, kterým lze zvýšit množství dostupných ryb pro rybáře a zároveň zajistit, že přírodní populace nebudou kontaminovány geny šlechtěných ryb (Kozfkay et al., 2006).

Produkce tetraploidních salmonidů nepřináší v současnosti žádné výhody oproti diploidním a triploidním jedincům, proto by jejich produkce dávala v budoucnu smysl jen jako nástroj k produkci triploidních jedinců ve velkém měřítku (Nagler, 2019).

### 3.6.1.1 Využití triploidie u GMO *Salmo salar*

Geneticky modifikovaný organismus (GMO) je definován jako jedinec, který ve svém genomu obsahuje alespoň jeden gen jiného živočišného/rostlinného druhu (FAO, 2000). V členských státech EU, GMO podléhají silným regulacím na základě Evropských směrnic 2001/18/ES a 2009/41/ES (EC, 2024a).

Doposud bylo pro Evropský trh v celé EU schváleno okolo 100 GMO rostlin (většina určena jako krmiva pro hospodářská zvířata), avšak žádný živočich (EC, 2024b). USA je z pohledu uvádění GMO na trh před Evropskou unií napřed a v roce 2015 se společnost AquaBounty podařilo získat povolení k prodeji prvního geneticky modifikovaného živočicha určeného pro lidskou spotřebu (FDA, 2023).

Tímto živočichem byl transgenní (GMO) losos (*S. salar*), dnes známý pod komerčním názvem AquaAdvantage salmon (AAS), který byl poprvé stvořen v roce 1989 na Memorial university of Newfoundland (AquaBounty, 2024a). Genom tohoto lososa byl doplněn o gen pro růstový hormon lososa čavyči (*Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792)) a gen pro antifreeze protein ze slimule americké (*Zoarces americanus* (Bloch & Schneider, 1801)).

Těmito genovými transfery, tak vznikl losos s vyšší odolností k chladným podmínkám, lepší konverzí krmiva a násobně rychlejším tělesným růstem. Standartně chovaný losos dorůstá do tržní velikosti (4–5 kg) 36 měsíců (Aydin et al., 2020). AAS dorůstá do stejné velikosti během poloviční doby, a navíc během svého kratšího života zkonsumuje o 25 % méně krmiva (AquaBounty, 2024b). Porovnání růstu AAS a běžného lososa je zachyceno

na Obrázku 8. Chov takovýchto lososů je pak velice atraktivní z pohledu vyšší obrátkovosti a menších nákladů na produkci jednoho kilogramu finálního produktu.



**Obrázek 8** - Porovnání dvou lososů stejného stáří. AquAdvantage salmon (v pozadí) a běžný losos obecný (v popředí).; zdroj: (AquaBounty, 2019)

Hlavní bariérou, která brzdí vývoj a akceptaci geneticky modifikovaných lososů v akvakultuře jsou obavy konzumentů o bezpečnosti GMO potravin a nebezpečí úniku GMO ryb, které by mohly způsobit nenávratné dopady na přírodní populace (Aydin et al., 2020). Geneticky modifikované organismy jsou považovány za vlastnické předměty, které mohou být patentovány (Piferrer et al., 2009). Na transgenní ryby se tedy vztahují vlastnická práva, licenční smlouvy, a především odpovědnost za způsobené škody (Piferrer et al., 2009). Je tedy v zájmu i samotné společnosti vlastníci GMO ryby předejít jejich možným únikům a minimalizovat pravděpodobnost způsobení jakýchkoliv škod na přírodních ekosystémech.

Úniky ryb představují enviromentální i finanční riziko. Veřejně obchodovaná společnost AquaBounty minimalizuje šanci dopadů svých transgenních lososů určených pro trh chovem samic, u kterých indukuje triploidii (dosažení téměř 100% neplodnosti) (FDA, 2024). Ryby v chovech se tak nemohou rozmnožovat a jediný způsob jakým je možné ohrozit přírodní populace je únik vajíček z neúspěšně triploidizovaných samic. Z těchto důvodů je však zařízení, ve kterém se transgenní lososi chovají vybaveno fyzickými bariérami (sítě, síta, filtry). Navíc je lokalizováno na místě, jehož přírodní podmínky jsou k dlouhodobému přežití lososů nehostinné a v řece, do které ústí odpadní voda z nádrží nežijí žádní salmonidi (FDA, 2024).

### 3.6.2 Využití triploidie u *Dicentrarchus labrax*

Mořčák evropský (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) je mořská dravá ryba, vyskytující se v blízkosti pobřeží Atlantiku (od Norska až po Maroko), ve Středoziemním a Černém moři. Pro její pevné bílé maso vynikající chuti je velice žádanou rybou. Díky vysoké poptávce po jejím mase byla jednou z prvních cílových ryb pro rozvoj Evropské akvakultury

v 70. a 80. letech 20. století (Felip, Piferrer, 2019). Celosvětová produkce v roce 2020 dosáhla téměř 250 tis. tun (FAO, 2022).

U Mořčáka evropského nachází své potenciální využití pouze triploidie. Tetraploidie, stejně jako u většiny ostatních druhů způsobuje nízkou životaschopnost (Felip, Piferrer, 2019). K indukci triploidie se využívá nejčastěji tlakového a teplotního šoku (teploty okolo 0 °C), ostatní metody jsou možné, avšak dosud nejsou optimalizované (Felip, Piferrer, 2019).

Přínos triploidních mořčáků spočívá v jejich kompletní neplodnosti. Zatímco v počátečních fázích života rostou triploidi stejně rychle nebo pomaleji než diploidi, po dosažení váhy 3 kg se rychlost růstu obrací v jejich prospěch (Felip et al., 2009). Tato vlastnost by mohla být užitečná v měnících se podmínkách trhu, kdy konzumenti požadují stále větší velikosti ryb (Felip, Piferrer, 2019). Chov neplodných triploidních jedinců by navíc pomohl k minimalizaci dopadu akvakulturních chovů na přírodní populace (Felip et al., 2009).

### 3.6.3 Využití triploidie u *Scophthalmus maximus*

Pakambala velká (*Scophthalmus maximus* Linné, 1758) vyobrazená na obrázku 9, je mořská paprskoploutvá ryba z řádu platýsů (Pleuronectiformes). Obývá písčné a kamenné substráty v hloubkách 20–100 metrů. Je typická svým tělem kulatého tvaru a kryptickým zbarvením napodobujícím substrát, který obývá (Taboada et al., 2019). Výskyt *S. maximus* je omezen na oblasti kontinentálního šelfu severovýchodní části Atlantského oceánu (od Maroka po Severní polární kruh), Baltu, Středozemního a Černého moře (Martínez et al., 2016).



Obrázek 9 - Pakambala obecná (*S. maximus*).; zdroj: (Iglesias, 2009)

U pakambaly velké nachází své využití indukce triploidie. V diploidních populacích je poměr samic a samců 1:1. Indukce triploidie mění tento poměr ve prospěch samic na 3,3:1 (Cal et al., 2006). A protože samice rostou rychleji než samci (obvykle dorůstají komerční velikosti o 3-4 měsíce dříve), je změna tohoto poměru velice přívětivým benefitem (Taboada et al., 2019).

Triploidi pakambaly ve věku 6–24 měsíců vykazují stejnou mortalitu jako diploidi. Po prvním roce života triploidi rostou rychleji a od pohlavní dospělosti (mezi 24.–48. měsícem života) mají o 9 % větší míru přežití než diploidi, protože se u nich neprojevuje mortalita spojená s rozmnožováním (Cal et al., 2006). Ve věku 47 měsíců pak triploidi mají průměrně o 14,3 % větší hmotnost jatečně upraveného těla. Triploidní pakambala nevykazuje žádné rozdíly v morfologii těla, ani žádné rozdíly ve stavbě kostry a deformace mají stejný četnost jako u kontrolních diploidů (Hernández-Urcera et al., 2012).

### 3.6.4 Využití polyploidie u *Crassostrea gigas*

Ústřice jsou protandriční hermafroditi. První reprodukční cyklus dokončují jako samci, během druhého se stanou samicemi a v dalších reprodukčních obdobích je jejich pohlaví závislé na podmínkách okolního prostředí (Thorpe et al., 1995). Ústřice jsou charakteristické tvrdou, drsnou a nepravidelnou schránkou tvořenou ze dvou částí, která chrání jejich měkká těla (Kasmini, Batubara, 2022). Ústřice obývají svažitá dna vod s různými typy substrátů jako je bahno, písky, štěrky, kameny a dřevo (Lejart, Hily, 2011). Živí se filtrací organických látek z okolní vody, čímž napomáhají k snížení kalnosti a eutrofizaci vod, ve kterých žijí.

Indukce polyploidních ústřic (*M. gigas*) má dlouhou historii sahající až do roku 1981 (Li, Li, 2022). Triploidní a tetraploidní ústřice v současné akvakultuře hrají klíčovou roli. Celosvětová produkce ústřic rodu *Crassostrea* v roce 2020 činila 5 450 300 tun (30,72 % veškeré produkce měkkýšů) (FAO, 2022). Triploidi v současnosti představují více než polovinu této produkce (Wadsworth et al., 2019) a v USA (Virginie) tvoří triploidi od roku 2008 konzistentně dokonce 80–95 % veškeré produkce ústřic.

V minulosti se k indukci triploidů využívalo metody chemického šoku (Cytochalsin B) (Wadsworth et al., 2019), v současnosti se využívá křížení tetraploidních samců s diploidními samicemi (Nell, 2002). Tato metoda má 100% účinnost a umožňuje spolehlivou produkci triploidů ve velkém měřítku (Li, Li, 2022). Triploidi vzniklí křížením tetraploidů s diploidy navíc rostou rychleji než ti indukovaní chemickým šokem (Wang et al., 1999).

Producenti ústřic jsou motivováni k získávání tetraploidních linií, které jim zaručí neomezený přístup k triploidům jednou provždy (Li, Li, 2022). Chov a management tetraploidních linií není jednoduchý (pomalý růst, výskyt mosaicismu, aneuploidie, genomová nestabilita) (Li, Li, 2022), a proto je běžnou praktikou pro líhně nakupovat diploidní kryoprezervované spermie od specializovaných producentů, čímž se vyhnou potížím s managementem tetraploidních chovů (Piferrer et al., 2009).

V počátcích získávání tetraploidních ústřic byl kladen důraz spíše na rychlost, s kterou šlo tyto jedince získat v co největším množství, nikoliv na kvalitu diploidních ústřic, z kterých



tito tetraploidi vzešli (Li, Li, 2022). Do genofondu tetraploidních populací se tak dostaly i nevhodné vlastnosti jako je pomalý růst. Pomalu rostoucí tetraploidní ústřice pak nevyhnutelně ovlivňují rychlost růstu triploidních potomků (Li, Li, 2022), protože právě oni do další generace předávají dvě třetiny genů. Tetraploidní ústřice jsou ve většině případů plodné (Guo et al., 1996) a proto u nich lze aplikovat šlechtitelské programy a prioritně křížit tetraploidní jedince, vzešlých z rychle rostoucích a nemocím odolných diploidních ústřic. Za pomoci takovýchto šlechtitelských programů už bylo dosaženo takových úspěchů, že triploidní ústřice některých chovů rostou o více než 190 % rychleji než diploidi (Yang et al., 2018).

Obliba triploidních ústřic spočívá u farmářů v jejich rychlejším růstu, možnosti celoročního prodeje a konzumenti oceňují lepší chuť a pevnější strukturu masa (Piferrer et al., 2009).



**Obrázek 10** - Potomci vzniklí křížením diploid  $\times$  diploid (DD), diploid  $\times$  tetraploid (DT) a tetraploid  $\times$  tetraploid (TT) *C. gigas* v 160. den svého života; zdroj: (Li, Li, 2022), , rozlišení obrázku zvětšeno za pomoci nástroje pixelcut.ai

Triploidní ústřice rostou rychleji než diploidi i tetraploidi (viz obrázek 10). V některých případech takovou rychlostí, že triploidi po 8měsíčním pokuse vážili o 81 % více než kontrolní diploidi (Akashige, Fushimi, 1992). Dorůstají tak do tržní velikosti (75 mm) téměř o 2–5 měsíců dříve než diploidi v závislosti na místě chovu (Yang et al., 2018). Zrychlený růst se však projevuje pouze za podmínek dostatku potravy. V prostředích chudých na organické znečištění rostou triploidní ústřice stejně rychle jako diploidní (Nell, 2002). Zrychlený růst pak také pravděpodobně závisí na teplotě prostředí, ve kterém ústřice žijí. V laboratorních pokusech bylo zjištěno, že triploidní ústřice rostou rychleji v prostředí o teplotě 30 °C v porovnání s jedinci chovanými v teplotním rozmezí 8–15 °C (Nell, 2002).

Triploidních ústřice lze prodávat po celý rok, protože u nich dochází k redukci gonád (přítomnost gonád ovlivňuje chuť ústřic) a k téměř úplné redukci gametogeneze (Piferrer et al., 2009). Gametogeneze je více redukována u samic než u samců (Nell et al., 1994). Schopnost triploidních samců oplodnit svými spermiemi diploidní samice byla v laboratorním pokuse stanovena na 0,0008 %, přičemž lze očekávat že tato pravděpodobnost bude v přirozeném prostředí mimo laboratoř ještě nižší (Guo, Allen, 1994b). Dopady chovu triploidních populací ústřic by tak na přirozené populace měly mít minimální dopady.

## 4 Závěr

Polyploidní organismy jsou organismy s jednou či více nadpočetných sad chromozomů. Dělí se do dvou skupin na základě původu těchto nadbytečných sad, na autopolyploidy a alopolyploidy. Polyploidie sehrála významnou roli během evoluce rostlin a obratlovců. Většina dnes žijících zástupců těchto taxonů prošla během své evoluce více než jednou celogenomovou duplikací. Tyto dávné celogenomové duplikace jsou pravděpodobně důvodem současného druhového bohatství, které pozorujeme u krytosemenných rostlin a kostnatých ryb.

Vznik spontánní polyploidie je poměrně vzácným úkazem. Pro získávání triploidních a tetraploidních ryb, měkkýšů a korýšů se tedy nelze spoléhat na přirozené procesy a je nutné polyploidii indukovat. K indukci polyploidie v akvakultuře se využívá chemických a fyzikálních šoků aplikovaných krátce po oplodnění vajíček. V současnosti se využívají především metody fyzikálního šoku, které jsou spolehlivější, méně nákladné a nedochází při nich k manipulaci s toxickými látkami.

Úspěšnost indukce polyploidie je přímo závislá na kvalitě vajíček, teplotě prostředí ve kterém se procedura provádí, na načasování, intenzitě a době trvání šoku. Úspěšnost indukce lze ověřit za pomoci přímých a nepřímých laboratorních metod, kterými se identifikuje stupeň ploidie. Nejčastěji měřením obsahu DNA průtokovou cytometrií, která je v potravinářském průmyslu standardem.

Dopady polyploidie na akvakulturní organismy jsou druhově specifické. U ryb jsou přínosy polyploidie diskutabilní. U většiny druhů vznik polyploidie není pro akvakulturní chovy přínosem. Polyploidie u ryb vede k pomalejšímu růstu, změně poměru pohlaví, častějšímu výskytu kosterních deformací, sterilitě (triploidie) a nižší agresivitě. Naopak u měkkýšů je vznik polyploidie obecně přínosný a to především v případě triploidie. Triploidní jedinci mají redukované gonády, rychleji rostou a narůstají do celkově větších rozměrů.

V současné akvakultuře se využití polyploidie soustředí především na triploidní jedince. V akvakultuře ústřic (*C. gigas*) hraje triploidie klíčovou roli. Velká část objemu celkové produkce ústřic je v současnosti závislá na triploidních jedincích. Ti rostou rychleji a dorůstají větších rozměrů než diploidní jedinci. Navíc redukované gonády triploidů umožňují jejich celoroční prodej. Triploidie nalézá své využití i v akvakulturních chovech pstruhů (*O. mykiss*), a to pro možnost získávání filetů v průběhu roku nehledě na reprodukční cykly jedinců. Kvalita masa triploidních samic pstruhů není ovlivněna pohlavním dospíváním, a proto je možné zpracovávat jejich maso i během reprodukčního období.

Triploidie dále slouží jako nástroj k vyvolání sterility. V současnosti se využívá v GMO chovech lososů (*S. salar*) jako jedna z bariér bránící potenciálním negativním dopadům úniků těchto ryb. Do budoucna lze očekávat nárůst využití triploidie k sterilizaci stále většího množství akvakulturních organismů. Přínosem takovýchto sterilizací bude zamezení kontaminace genomů divokých populací geny vyšlechtěných a GMO ryb uniklých z faremních chovů.



## 5 Seznam literatury

- AKASHIGE, Satoru a FUSHIMI, Tooru, 1992. Growth, Survival, and Glycogen Content of Triploid Pacific Oyster *Crassostrea gigas* in the Waters of Hiroshima, Japan. online. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*. roč. 58, č. 6, s. 1063-1071. ISSN 1349-998X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2331/suisan.58.1063>. [cit. 2024-03-03].
- ALONSO, Mônica; TABATA, Yara; RIGOLINO, Marcos a TSUKAMOTO, Ricardo, 2000. Effect of induced triploidy on fin regeneration of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. online. roč. 7, č. 287, s. 493-502. Dostupné z: [https://doi.org/10.1002/1097-010X\(20001201\)287:7<493::AID-JEZ5>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-010X(20001201)287:7<493::AID-JEZ5>3.0.CO;2-8). [cit. 2024-02-17].
- AQUABOUNTY, , 2024a. *Pioneering the Future of Seafood*. online. In: AquaBounty. Dostupné z: <https://aquabounty.com/about-us>. [cit. 2024-03-11].
- AQUABOUNTY, , 2024b. *Why AquaBounty Salmon*. online. In: AquaBounty. Dostupné z: <https://aquabounty.com/our-salmon/why-aquabounty-salmon>. [cit. 2024-03-11].
- AQUABOUNTY, , 2019. *Media Relations*. online. In: AquaBounty. Dostupné z: <https://aquabounty.com/investors/media-relations/aquadvantage-the-first-gmo-salmon-is-coming-to-america>. [cit. 2024-04-03].
- ARAI, Katsutoshi a FUJIMOTO, Takafumi (ed.), 2018. Chromosome Manipulation Techniques and Applications to Aquaculture. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex control in aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 138. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch6>. [cit. 2023-11-30].
- ARAI, Katsutoshi a FUJIMOTO, Takafumi, 2019. Chromosome Manipulation Techniques and Applications to Aquaculture. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 137-162. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch6>. [cit. 2023-12-24].
- ATKINS, Michelle a BENFEY, Tillmann, 2008. Effect of acclimation temperature on routine metabolic rate in triploid salmonids. online. roč. 149, č. 2, s. 157-161. ISSN 10956433. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.11.004>. [cit. 2024-02-17].
- AYDIN, İlhan; GODDARD, Anthony a CEBECI, Ayşe, 2020. Bigger, stronger, better: Fish transgenesis applications and methods. online. *Tarla Bitkileri Merkez Arastirma Enstitusu*. roč. 29, č. 2, s. 85-97. ISSN 2687-3761. Dostupné z: <https://doi.org/10.38042/biost.2020.29.02.05>. [cit. 2024-03-11].
- BENFEY, Tillmann J., 1999. The Physiology and Behavior of Triploid Fishes. online. *Reviews in Fisheries Science*. roč. 7, č. 1, s. 39-67. ISSN 1064-1262. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10641269991319162>. [cit. 2024-02-17].
- BENFEY, Tillmann a BIRON, Michel, 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). online. *Aquaculture*. roč. 184, č. 1-2, s. 167-176. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00314-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00314-2). [cit. 2024-02-17].
- BENFEY, TJ (ed.), 2009. Producing sterile and single-sex populations of fish for Aquaculture. online. In: BURNEL, Gavin a ALLAN, Geoff. *New Technologies in Aquaculture*. Woodhead Publishing, s. 143-164. ISBN 9781845696474. [cit. 2023-12-18].
- BEN-HORIN, Tal; CIESIELSKI, Mark; LUCAS, Jonathan; NOBLE, Rachel a WILBUR, Ami, 2024. Pathology associated with summer oyster mortality in North Carolina. online. *Aquaculture Reports*. roč. 34. ISSN 23525134. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101901>. [cit. 2024-02-18].

- BIRSTEIN, Vadim a DESALLE, Rob, 1998. Molecular Phylogeny of Acipenserinae. online. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. roč. 9, č. 1, s. 141-155. ISSN 10557903. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0443>. [cit. 2023-12-08].
- BRAASCH, Ingo a POSTLETHWAIT, John, 2012. Polyploidy in Fish and the Teleost Genome Duplication. online. *Polyploidy and Genome Evolution*. s. 341-383. ISBN 978-3-642-31441-4. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-31442-1\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-642-31442-1_17). [cit. 2023-12-10].
- BRAKE, John; DAVIDSON, Jeffrey a DAVIS, Jonathan, 2004. Field observations on growth, gametogenesis, and sex ratio of triploid and diploid *Mytilus edulis*. online. *Aquaculture*. roč. 236, č. 1-4, s. 179-191. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.016>. [cit. 2024-02-18].
- BROCHMANN, C.; BRYSTING, A.; ALSOS, I.; BORGES, L.; GRUNDT, H. et al., 2004. Polyploidy in arctic plants. online. *Biological Journal of the Linnean Society*. roč. 82, č. 4, s. 521-536. ISSN 00244066. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00337.x>. [cit. 2023-12-09].
- CADORET, Jean-Paul, 1992. Electric field-induced polyploidy in mollusc embryos. online. *Aquaculture*. roč. 106, č. 2, s. 127-139. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90197-S](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90197-S). [cit. 2023-12-18].
- CAL, R.M.; VIDAL, S.; GÓMEZ, C.; ÁLVAREZ-BLÁZQUEZ, B.; MARTÍNEZ, P. et al., 2006. Growth and gonadal development in diploid and triploid turbot (*Scophthalmus maximus*). online. *Aquaculture*. roč. 251, č. 1, s. 99-108. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.05.010>. [cit. 2024-03-02].
- CAÑESTRO, Cristian; ALBALAT, Ricard; IRIMIA, Manuel a GARCIA-FERNÁNDEZ, Jordi, 2013. Impact of gene gains, losses and duplication modes on the origin and diversification of vertebrates. online. roč. 24, č. 2, s. 83-94. ISSN 10849521. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2012.12.008>. [cit. 2024-03-04].
- CARDONA-COSTA, J.; GARCÍA-XIMÉNEZ, F. a ESPINÓS, F.J., 2010. Definition of fusion medium and electric parameters for efficient zygote electrofusion in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). online. *Theriogenology*. roč. 74, č. 5, s. 828-834. ISSN 0093691X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.007>. [cit. 2023-12-14].
- CARTER, C.; MCCARTHY, I.; HOULIHAN, D.; JOHNSTONE, R.; WALSINGHAM, M. et al., 1994. Food consumption, feeding behaviour, and growth of triploid and diploid Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. online. *Canadian Journal of Zoology*. roč. 72, č. 4, s. 609-617. ISSN 0008-4301. Dostupné z: <https://doi.org/10.1139/z94-083>. [cit. 2024-02-18].
- COLAS, Pierre a DUBÉ, François, 1998. Meiotic maturation in mollusc oocytes. online. roč. 9, č. 5, s. 539-548. ISSN 10849521. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/scdb.1998.0248>. [cit. 2023-12-13].
- COMAI, Luca, 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. online. *Nature Reviews Genetics*. roč. 6, č. 11, s. 836-846. ISSN 1471-0056. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrg1711>. [cit. 2023-12-07].
- Council Directive 90/220/EEC: of 23 April 1990 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms, 1990. In: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31990L0220>. Annex I A, part 2, s. 8.
- COYNE, Jerry A., 1992. Genetics and speciation. online. *Nature*. roč. 355, č. 6360, s. 511-515. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/355511a0>. [cit. 2023-12-09].
- CUÑADO, N; TERRONES, J; SÁNCHEZ, L; MARTÍNEZ, P a SANTOS, J, 2002. Sex-dependent synaptic behaviour in triploid turbot, *Scophthalmus maximus* (Pisces, Scophthalmidae). online. *Heredity*. roč. 89, č. 6, s. 460-464. ISSN 0018-067X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800165>. [cit. 2023-12-25].
- DAVID, Kyle T., 2022. Global gradients in the distribution of animal polyploids. online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. roč. 119, č. 48. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.2214070119>. [cit. 2023-12-09].

- DIMIJIAN, Gregory G., 2017. Evolution of Sexuality: Biology and Behavior. online. *Baylor University Medical Center Proceedings*. roč. 18, č. 3, s. 244-258. ISSN 0899-8280. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/08998280.2005.11928075>. [cit. 2024-02-13].
- DUBÉ, Pierre; BLANC, Jean-Marie; CHOUINARD, Michel a DE LA NOÛE, Joël, 1991. Triploidy induced by heat shock in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). online. *Aquaculture*. roč. 92, s. 305-311. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90036-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90036-7). [cit. 2023-12-18].
- DU, Kang; STÖCK, Matthias; KNEITZ, Susanne; KLOPP, Christophe; WOLTERING, Joost et al., 2020. The sterlet sturgeon genome sequence and the mechanisms of segmental rediploidization. online. roč. 4, č. 6, s. 841-852. ISSN 2397-334X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41559-020-1166-x>. [cit. 2024-03-19].
- EC, , 2024a. *GMO legislation*. online. In: Food Safety. Dostupné z: [https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/gmo-legislation\\_en](https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/gmo-legislation_en). [cit. 2024-03-12].
- EC, , 2024b. *Genetically Modified Organisms*. online. In: Nenalezený vydavatel. Dostupné z: <https://webgate.ec.europa.eu/dyna2/gm-register/>. [cit. 2024-03-12].
- FAO, , 2000. *The state of world fisheries and aquaculture - 2000 (SOFIA)*. online. Rome, Italy: FAO. ISBN 9251044929. Dostupné z: <https://www.fao.org/documents/card/en?details=d7f3287e-b826-5876-9d59-0428c722f30f>. [cit. 2024-03-11].
- FAO, , 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. online. s. 29. ISSN 2410-5902. Dostupné z: <https://doi.org/10.4060/ca9229en>. [cit. 2023-11-20].
- FAO, , 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture: Towards blue transformation. In: Rome: FAO, s. 1-91. ISSN 2410-5902. Dostupné z: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.
- FAO, 2023. *Definition of Aquaculture*. online. In: Fao.org. Dostupné z: <https://www.fao.org/fishery/en/16064/en>. [cit. 2023-10-23].
- FDA, , 2023. *U.S. Food and Drug Administration*. online. In: U.S. Food and Drug Administration. Dostupné z: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/intentional-genomic-alterations-igas-animals/aquadvantage-salmon>. [cit. 2024-03-12].
- FDA, , 2024. *U.S. Food and Drug Administration*. online. In: U.S. Food and Drug Administration. Dostupné z: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/aquadvantage-salmon/qa-fdas-approval-aquadvantage-salmon>. [cit. 2024-03-12].
- FELIP, A.; CARRILLO, M. a ZANUY, S., 2009. Older triploid fish retain impaired reproductive endocrinology in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. online. *Journal of Fish Biology*. roč. 75, č. 10, s. 2657-2669. ISSN 0022-1112. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02458.x>. [cit. 2024-03-02].
- FELIP, Alicia a PIFERRER, Francesc, 2019. The Induction of Polyploidy, Gynogenesis, and Androgenesis in the European Sea Bass. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 347-358. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch16>. [cit. 2024-03-02].
- FELIP, Alicia; ZANUY, Silvia; CARRILLO, Manuel; MARTÍNEZ, Gonzalo; RAMOS, Jesús et al., 1997. Optimal conditions for the induction of triploidy in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). online. *Aquaculture*. roč. 152, č. 1-4, s. 287-298. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01509-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01509-8). [cit. 2023-12-14].

FERNANDES-MATIOLI, F.M.C.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F. a TOLEDO-FILHO, S.A., 2014. Natural triploidy in the Neotropical species *Gymnotus carapo* (Pisces: Gymnotiformes). online. *Caryologia*. roč. 51, č. 3-4, s. 319-322. ISSN 0008-7114. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00087114.1998.10797423>. [cit. 2024-02-15].

FLAJŠHANS, Martin a RÁB, Petr, 2013. Polyploidie u ryb. *Živa*. roč. 2013, č. 6, s. 261-264.

GAGNAIRE, Beatrice; SOLETCHNIK, Patrick; MADEC, Patrick; GEAIRON, Philippe; LE MOINE, Olivier et al., 2006. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France: Difference in mortality, sexual maturation and hemocyte parameters. online. *Aquaculture*. roč. 254, č. 1-4, s. 606-616. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.008>. [cit. 2024-02-18].

GALBREATH, Peter; JEAN, William; ANDERSON, Valerie a THORGAARD, Gary, 1994. Freshwater performance of all-female diploid and triploid Atlantic salmon. online. *Aquaculture*. roč. 128, č. 1-2, s. 41-49. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90100-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90100-7). [cit. 2024-02-16].

GARLOCK, Taryn; ASCHE, Frank; ANDERSON, James; BJØRNDAL, Trond; KUMAR, Ganesh et al., 2020. A Global Blue Revolution: Aquaculture Growth Across Regions, Species, and Countries. online. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. roč. 28, č. 1, s. 107-116. ISSN 2330-8249. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1678111>. [cit. 2023-11-04].

GARRIDO-RAMOS, M.; HERRAN, R.; LOZANO, R.; CÁRDENAS, S.; REJÓN, C. et al., 1996. Induction of triploidy in offspring of gilthead seabream (*Sparus aurata*) by means of heat shock. online. *Journal of Applied Ichthyology*. roč. 12, č. 1, s. 53-55. ISSN 0175-8659. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1996.tb00060.x>. [cit. 2023-12-14].

GLASAUER, Stella a NEUHAUSS, Stephan, 2014. Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences. online. *Molecular Genetics and Genomics*. roč. 289, č. 6, s. 1045-1060. ISSN 1617-4615. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00438-014-0889-2>. [cit. 2023-12-10].

GOMELSKY, B, 2003. Chromosome set manipulation and sex control in common carp: a review. online. *Aquatic Living Resources*. roč. 16, č. 5, s. 408-415. ISSN 09907440. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(03\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(03)00085-8). [cit. 2023-12-18].

GOMELSKY, Boris a L. SHELTON, William, 2019. Sex Control and Chromosome Manipulation in Cyprinidae: Common Carp and Grass Carp. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 793-824. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch41>. [cit. 2023-12-25].

GREGORY, T. a MABLE, Barbara, 2005. Polyploidy in Animals. online. *The Evolution of the Genome*. s. 427-517. ISBN 9780123014634. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-012301463-4/50010-3>. [cit. 2024-02-27].

GUO, X. a ALLEN, S., 1994a. Viable tetraploids in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by inhibiting polar body 1 in eggs from triploids. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. roč. 3, č. 1, s. 42-50. ISSN 10536426.

GUO, X. a ALLEN, S., 1994b. Reproductive Potential and Genetics of Triploid Pacific Oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). online. *The Biological Bulletin*. roč. 187, č. 3, s. 309-318. ISSN 0006-3185. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/1542288>. [cit. 2024-03-03].

GUO, X.; COOPER, K.; HERSHBERGER, W. a CHEW, K., 1992. Genetic Consequences of Blocking Polar Body I with Cytochalasin B in Fertilized Eggs of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*: I. Ploidy of Resultant Embryos. online. *The Biological Bulletin*. roč. 183, č. 3, s. 381-386. ISSN 0006-3185. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/1542013>. [cit. 2024-02-16].



- GUO, X.; WANG, Y.; XU, Z. a YANG, H., 2009. Chromosome set manipulation in shellfish. online. *New Technologies in Aquaculture*. s. 165-194. ISBN 9781845693848. Dostupné z: <https://doi.org/10.1533/9781845696474.1.165>. [cit. 2023-12-24].
- GUO, Ximing; DEBROSSE, Gregory a ALLEN, Standish, 1996. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. online. *Aquaculture*. roč. 142, č. 3-4, s. 149-161. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01243-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01243-5). [cit. 2023-12-24].
- HARRELL, Reginal; VAN HEUKELEM, William a KERBY, Howard, 1998. A Comparison of Triploid Induction Validation Techniques. online. *The Progressive Fish-Culturist*. roč. 60, č. 3, s. 221-226. Dostupné z: [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1998\)060<0221:ACOTIV>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1998)060<0221:ACOTIV>2.0.CO;2). [cit. 2024-02-27].
- HASSAN, A.; OKOMODA, V.T. a PRADEEP, P.J., 2018. Triploidy induction by electric shock in red hybrid tilapia. online. *Aquaculture*. roč. 495, s. 823-830. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.074>. [cit. 2023-12-18].
- HEGARTY, Matthew a HISCOCK, Simon, 2007. Polyploidy: Doubling up for Evolutionary Success. online. *Current Biology*. roč. 17, č. 21, s. 927-929. ISSN 09609822. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.060>. [cit. 2023-12-08].
- HERNÁNDEZ-URCERA, Jorge; TORRES, Eva; BARREIRO, Daniel; BARREIRO-LOIS, Andrés; ALONSO, Josep et al., 2012. Induction of triploidy in turbot (*Scophthalmus maximus*) does not affect gross body morphology and skeleton characteristics. online. *Aquaculture*. roč. 338-341, s. 309-312. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.023>. [cit. 2024-03-02].
- HU, Fangzhou; FAN, Jingjing; QIN, Qinbo; HUO, Yangyang; WANG, Yude et al., 2019. The Sterility of Allotriploid Fish and Fertility of Female Autotriploid Fish. online. *Frontiers in Genetics*. roč. 10. ISSN 1664-8021. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00377>. [cit. 2023-12-25].
- HUSBAND, Brian; BALDWIN, Sarah a SUDA, Jan, 2013. The Incidence of Polyploidy in Natural Plant Populations: Major Patterns and Evolutionary Processes. online. *Plant Genome Diversity Volume 2*. s. 255-276. ISBN 978-3-7091-1159-8. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_16). [cit. 2023-12-09].
- HYNDMAN, C.A.; KIEFFER, J.D. a BENFEY, T.J., 2003. Physiology and survival of triploid brook trout following exhaustive exercise in warm water. online. *Aquaculture*. roč. 221, č. 1-4, s. 629-643. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00119-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00119-4). [cit. 2024-02-17].
- CHERFAS, Nina; GOMELSKY, Boris; BEN-DOM, Naomi; PERETZ, Yakov a HULATA, Gideon, 1994. Assessment of triploid common carp (*Cyprinus carpio* L.) for culture. online. *Aquaculture*. roč. 127, č. 1, s. 11-18. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90187-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90187-2). [cit. 2024-02-17].
- CHOLEVA, L. a JANKO, K., 2013. Rise and Persistence of Animal Polyploidy: Evolutionary Constraints and Potential. online. *Cytogenetic and Genome Research*. roč. 140, č. 2-4, s. 151-170. ISSN 1424-8581. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000353464>. [cit. 2023-12-09].
- CHOURROUT, D.; CHEVASSUS, B.; KRIEG, F.; HAPPE, A.; BURGER, G. et al., 1986. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females ? Potential of tetraploid fish. online. *Theoretical and Applied Genetics*. roč. 72, č. 2, s. 193-206. ISSN 0040-5752. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF00266992>. [cit. 2024-02-17].
- CHOURROUT, Daniel, 1984. Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: Production of all-triploids, all-tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. online. *Aquaculture*. roč. 36, č. 1-2, s. 111-126. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90058-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90058-9). [cit. 2023-12-14].
- IGLESIAS, Jose Luis Cernadas, 2009. 674-Rodaballo. online. In: FLICKR, . AWESOME. *Flickr*. Dostupné z: <https://flickr.com/photos/jlcernadas/3979971860/in/album-72157620951162086/>. [cit. 2024-04-03].

KALOUS, Lukáš, 2013. Karas stříbřitý a jeho příbuzní. online. *Živa*. roč. 2013, č. 6, s. 285-288. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/karas-stribrity-a-jeho-pribuzni.pdf>. [cit. 2024-04-19].

KASMINI, Lili a BATUBARA, Agung, 2022. Biology and ecological functional of Genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae). online. *Depik*. roč. 11, č. 1, s. 75-84. ISSN 25026194. Dostupné z: <https://doi.org/10.13170/depik.11.1.23444>. [cit. 2024-03-26].

KAVUMPURATH, S. a PANDIAN, T., 1992. Effects of induced triploidy on aggressive display in the fighting fish, *Betta splendens* Regan. online. *Aquaculture Research*. roč. 23, č. 3, s. 281-290. ISSN 1355557X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1992.tb00771.x>. [cit. 2024-02-18].

KIM, Dong; NAM, Yoon; NOH, Jae; PARK, Chul a CHAPMAN, Frank, 2005. Karyotype of North American shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* with the highest chromosome number in the *Acipenseriformes*. online. *Ichthyological Research*. roč. 52, č. 1, s. 94-97. ISSN 1341-8998. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10228-004-0257-z>. [cit. 2024-02-14].

KJØRSVIK, E.; MANGOR-JENSEN, A. a HOLMEFJORD, I., 1990. Egg Quality in Fishes. online. *Advances in Marine Biology*. s. 71-113. ISBN 9780120261260. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60199-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60199-6). [cit. 2023-12-17].

KOZFKAY, Joseph; DILLON, Jeffrey a SCHILL, Daniel, 2006. Routine Use of Sterile Fish in Salmonid Sport Fisheries. online. *Fisheries*. roč. 31, č. 8, s. 392-401. ISSN 0363-2415. Dostupné z: [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(2006\)31\[392:RUOSFI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(2006)31[392:RUOSFI]2.0.CO;2). [cit. 2024-03-01].

LEE, Cheng-Sheng a DONALDSON, Edward, 2001. General discussion on "Reproductive biotechnology in finfish aquaculture". online. *Aquaculture*. roč. 197, č. 1-4, s. 303-320. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00591-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00591-9). [cit. 2023-12-25].

LEGGATT, Rosalind a IWAMA, George, 2003. Occurrence of polyploidy in the fishes. online. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. roč. 13, č. 3, s. 237-246. ISSN 0960-3166. Dostupné z: <https://doi.org/10.1023/B:RFBF.0000033049.00668.fe>. [cit. 2023-12-08].

LEJART, Morgane a HILY, Christian, 2011. Differential response of benthic macrofauna to the formation of novel oyster reefs (*Crassostrea gigas*, Thunberg) on soft and rocky substrate in the intertidal of the Bay of Brest, France. online. *Journal of Sea Research*. roč. 65, č. 1, s. 84-93. ISSN 13851101. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.seares.2010.07.004>. [cit. 2024-03-26].

LIDDER, Preetmoninder a SONNINO, Andrea, 2012. Biotechnologies for the Management of Genetic Resources for Food and Agriculture. online. *Advances in Genetics*. s. 1-167. ISBN 9780123943941. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394394-1.00001-8>. [cit. 2023-12-24].

LI, Yongguo a LI, Qi, 2022. The growth, survival and ploidy of diploid, triploid and tetraploid of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in larval and juvenile stages. online. *Aquaculture*. roč. 553. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738083>. [cit. 2024-03-03].

MABLE, B.; ALEXANDROU, M. a TAYLOR, M., 2011. Genome duplication in amphibians and fish: an extended synthesis. online. *Journal of Zoology*. roč. 284, č. 3, s. 151-182. ISSN 0952-8369. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2011.00829.x>. [cit. 2023-12-09].

MALLET, James, 2005. Hybridization as an invasion of the genome. online. roč. 20, č. 5, s. 229-237. ISSN 01695347. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>. [cit. 2023-12-08].

MALLET, James, 2007. Hybrid speciation. online. *Nature*. roč. 446, č. 7133, s. 279-283. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nature05706>. [cit. 2023-12-08].

- MANAN, Hidayah a IKHWANUDDIN, Mhd, 2021. Triploid induction in penaeid shrimps aquaculture: a review. online. *Reviews in Aquaculture*. roč. 13, č. 1, s. 619-631. ISSN 1753-5123. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/raq.12489>. [cit. 2024-03-10].
- MARTÍNEZ, Paulino; ROBLEDO, Diego; RODRÍGUEZ-RAMILO, Silvia; HERMIDA, Miguel; TABOADA, Xoana et al., 2016. Turbot ( *Scophthalmus maximus* ) genomic resources: application for boosting aquaculture production. online. *Genomics in Aquaculture*. s. 131-163. ISBN 9780128014189. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801418-9.00006-8>. [cit. 2024-03-02].
- MAXIME, Valérie, 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. online. *Fish and Fisheries*. roč. 9, č. 1, s. 67-78. ISSN 1467-2960. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2007.00269.x>. [cit. 2023-12-18].
- NAGLER, James J., 2019. Polyploidy Production in Salmonidae. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 297-304. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch13>. [cit. 2023-12-18].
- NELL, John A, 2002. Farming triploid oysters. online. *Aquaculture*. roč. 210, č. 1-4, s. 69-88. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00861-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00861-4). [cit. 2024-03-03].
- NELL, John; COX, Elizabeth; SMITH, Ian a MAGUIRE, Greg, 1994. Studies on triploid oysters in Australia. I. The farming potential of triploid Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley). online. *Aquaculture*. roč. 126, č. 3-4, s. 243-255. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90040-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90040-X). [cit. 2024-03-03].
- NELSON, Joseph; GRANDE, Terry a WILSON, Mark, 2016. *Fishes of the World*. online. 5th edition. John Wiley and Sons. ISBN 9781119174844. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119174844>. [cit. 2024-03-11].
- OJANGUREN, A. a BRAÑA, F., 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. online. *Journal of Fish Biology*. roč. 62, č. 3, s. 580-590. ISSN 0022-1112. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00049.x>. [cit. 2023-12-17].
- OKOMODA, Victor; AMINATH, Lubna; OLADIMEJI, Sunday; ABOL-MUNAFI, Ambok; KOREDE, Alabi et al., 2020. First Report on Successful Triploidy Induction in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Using Electroporation. online. *Scientific Reports*. roč. 10, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59389-2>. [cit. 2023-12-18].
- OTTO, Sarah P., 2007. The Evolutionary Consequences of Polyploidy. online. *Cell*. roč. 131, č. 3, s. 452-462. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.022>. [cit. 2023-12-09].
- OTTO, Sarah a WHITTON, Jeannette, 2000. POLYPLOID INCIDENCE AND EVOLUTION. online. *Annual Review of Genetics*. roč. 34, č. 1, s. 401-437. ISSN 0066-4197. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.401>. [cit. 2023-12-07].
- PIFERRER, F, 2003. Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) II. Effects of cold shock timing and induction of triploidy in a large volume of eggs. online. *Aquaculture*. roč. 220, č. 1-4, s. 821-831. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00535-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00535-5). [cit. 2023-12-17].
- PIFERRER, Francesc; BEAUMONT, Andy; FALGUIÈRE, Jean-Claude; FLAJŠHANS, Martin; HAFFRAY, Pierrick et al., 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. online. *Aquaculture*. roč. 293, č. 3-4, s. 125-156. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.036>. [cit. 2023-12-05].
- RÁB, Petr; BOHLEN, Jörg; RÁBOVÁ, Marie; FLAJŠHANS, Martin a KALOUS, Lukáš, 2007. Cytogenetics as a Tool in Fish Conservation: The Present Situation in Europe. online. *Fish Cytogenetics*. s. 215-240. ISBN 9780429094156. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/b10746-8>. [cit. 2023-12-08].

- RAHMAN, M.; LEE, Sang-Go; YUSOFF, Fatimah a RAFIQUZZAMAN, S.M., 2019. Hybridization and Its Application in Aquaculture. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd., s. 163-178. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch7>. [cit. 2024-03-01].
- RAMSEY, Justin a SCHEMSKE, Douglas, 1998. PATHWAYS, MECHANISMS, AND RATES OF POLYPLOID FORMATION IN FLOWERING PLANTS. online. *Annual Review of Ecology and Systematics*. roč. 29, č. 1, s. 467-501. ISSN 0066-4162. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.467>. [cit. 2023-12-08].
- RAMSEY, Justin a SCHEMSKE, Douglas, 2002. Neopolyploidy in Flowering Plants. online. *Annual Review of Ecology and Systematics*. roč. 33, č. 1, s. 589-639. ISSN 0066-4162. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150437>. [cit. 2023-12-07].
- RASMUSSEN, Rosalee a MORRISSEY, Michael, 2007. Biotechnology in Aquaculture: Transgenics and Polyploidy. online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. roč. 6, č. 1, s. 2-16. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00013.x>. [cit. 2024-03-29].
- SADLER, J; PANKHURST, P.M a KING, H.R, 2001. High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). online. *Aquaculture*. roč. 198, č. 3-4, s. 369-386. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00508-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00508-7). [cit. 2024-02-17].
- SINGH, Param a ISAMBERT, Hervé, 2019. OHNOLOGS v2: a comprehensive resource for the genes retained from whole genome duplication in vertebrates. online. *Nucleic Acids Research*. ISSN 0305-1048. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz909>. [cit. 2023-12-10].
- SNUSTAD, D. Peter a SIMMONS, Michael J., 2009. *Genetika*. 1. vyd. Přeložil Jiřina RELICHOVÁ. Brno: Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-4852-2.
- SOLTIS, Douglas; ALBERT, Victor; LEEBENS-MACK, Jim; BELL, Charles; PATERSON, Andrew et al., 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. online. *American Journal of Botany*. roč. 96, č. 1, s. 336-348. ISSN 0002-9122. Dostupné z: <https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>. [cit. 2024-03-04].
- SOLTIS, Douglas; BUGGS, Richard; DOYLE, Jeff a SOLTIS, Pamela, 2010. What we still don't know about polyploidy. online. *TAXON*. roč. 59, č. 5, s. 1387-1403. ISSN 0040-0262. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/tax.595006>. [cit. 2023-12-05].
- SONG, Can; LIU, ShaoJun; XIAO, Jun; HE, WeiGuo; ZHOU, Yi et al., 2012. Polyploid organisms. online. *Science China Life Sciences*. roč. 55, č. 4, s. 301-311. ISSN 1674-7305. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4310-2>. [cit. 2023-12-08].
- SWARUP, H., 1959. The oxygen consumption of diploid and triploid *Gasterosteus aculeatus* (L). online. *Journal of Genetics*. roč. 56, č. 2, s. 156-160. ISSN 0022-1333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02984742>. [cit. 2024-02-16].
- TABOADA, Xoana; ROBLEDO, Diego; BOUZA, Carmen; PIFERRER, Francesc; VIÑAS, Ana et al., 2019. Reproduction and Sex Control in Turbot. online. In: WANG, Han-Ping; PIFERRER, Francesc; CHEN, Song-Lin a SHEN, Zhi-Gang. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons Ltd. ISBN 9781119127291. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch28>. [cit. 2024-03-02].
- TELETCHÉA, Fabrice a FONTAINE, Pascal, 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. online. *Fish and Fisheries*. roč. 15, č. 2, s. 181-195. ISSN 1467-2960. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/faf.12006>. [cit. 2024-03-11].
- TESKEREDŽIĆ, E.; TESKEREDŽIĆ, Z.; DONALDSON, E.M.; MCLEAN, E. a SOLAR, I., 1993. Triploidization of coho salmon following application of heat and electric shocks. online. *Aquaculture*. roč. 116, č. 2-3, s. 287-294. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90015-Q](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90015-Q). [cit. 2023-12-18].

- THORGAARD, Gary H., 1983. 8 Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish. online. *Reproduction - Behavior and Fertility Control*. Fish Physiology. s. 405-434. ISBN 9780123504296. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60308-8](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60308-8). [cit. 2023-12-24].
- THORGAARD, Gary; ARBOGAST, Daniel; HENDRICKS, Jerry; PEREIRA, Clifford a BAILEY, George, 1999. Tumor suppression in triploid trout. online. *Aquatic Toxicology*. roč. 46, č. 2, s. 121-126. ISSN 0166445X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(98\)00121-0](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00121-0). [cit. 2024-02-17].
- THORPE, J.E.; LANNAN, J.E.; GALL, G.A.E. a NASH, C.E. (ed.), 1995. *Conservation of Fish and Shellfish Resources*. online. Elsevier Ltd. ISBN 978-0-12-690685-1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-690685-1.X5000-0>. [cit. 2024-03-19].
- THRESHER, Ronald; HAYES, Keith; BAX, Nicholas; TEEM, John; BENFEY, Tillmann et al., 2014. Genetic control of invasive fish: technological options and its role in integrated pest management. online. *Biological Invasions*. roč. 16, č. 6, s. 1201-1216. ISSN 1387-3547. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10530-013-0477-0>. [cit. 2024-03-01].
- TROJAK-GOLUCH, Anna; KAWKA-LIPIŃSKA, Magdalena; WIELGUSZ, Katarzyna a PRACZYK, Marcin, 2021. Polyploidy in Industrial Crops: Applications and Perspectives in Plant Breeding. online. *Agronomy*. roč. 11, č. 12. ISSN 2073-4395. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agronomy11122574>. [cit. 2023-12-09].
- UEDA, Takayoshi; KOBAYASHI, Michiko a SATO, Ryozyo, 1986. Triploid rainbow trouts induced by polyethylene glycol. online. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. roč. 62, č. 5, s. 161-164. ISSN 0386-2208. Dostupné z: <https://doi.org/10.2183/pjab.62.161>. [cit. 2023-12-25].
- UNITED NATIONS, , 2022. World Population Prospects 2022. online. In: UNITED NATIONS, . *World Population Prospects 2022*. New York: United Nations, s. 3. ISBN 978-92-1-148373-4. Dostupné z: [https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/wpp2022\\_summary\\_of\\_results.pdf](https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/wpp2022_summary_of_results.pdf). [cit. 2023-11-04].
- UTTER, Fred; JOHNSON, Orlay; THORGAARD, Gary a RABINOVITCH, Peter, 1983. Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon. online. *Aquaculture*. roč. 35, s. 125-135. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90080-7). [cit. 2024-02-18].
- VAN DE PEER, Yves; MIZRACHI, Eshchar a MARCHAL, Kathleen, 2017. The evolutionary significance of polyploidy. online. *Nature Reviews Genetics*. roč. 18, č. 7, s. 411. ISSN 1471-0056. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.26>. [cit. 2023-11-30].
- WADSWORTH, Pandora; WILSON, Alan a WALTON, William, 2019. A meta-analysis of growth rate in diploid and triploid oysters. online. *Aquaculture*. roč. 499, s. 9-16. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.018>. [cit. 2024-03-03].
- WANG, Zhaoping; GUO, Ximing; ALLEN, Standish a WANG, Rucai, 1999. Aneuploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) as incidentals from triploid production. online. *Aquaculture*. roč. 173, č. 1-4, s. 347-357. ISSN 00448486. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00457-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00457-8). [cit. 2024-03-03].
- XU, Jianhe; YOU, Feng; WU, Xiongfei; ZHANG, Peijun; LIN, Yongjian et al., 2008. Induction of triploidy in large yellow crocker *Pseudosciaena crocea* (Richardson, 1846): effects of pressure shocks and growth performance in the first rearing year. online. *Aquaculture Research*. roč. 39, č. 13, s. 1369-1376. ISSN 1355557X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02005.x>. [cit. 2023-12-14].
- XU, Peng; ZHANG, Xiaofeng; WANG, Xumin; LI, Jiongtang; LIU, Guiming et al., 2014. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. online. *Nature Genetics*. roč. 46, č. 11, s. 1212-1219. ISSN 1061-4036. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ng.3098>. [cit. 2023-12-10].

YANG, Huiping a GUO, Ximing, 2006. Tetraploid Induction by Inhibiting Mitosis I with Heat Shock, Cold Shock, and Nocodazole in the Hard Clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). online. *Marine Biotechnology*. roč. 8, č. 5, s. 501-510. ISSN 1436-2228. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10126-005-6183-x>. [cit. 2023-12-24].

YANG, Huiping; SIMON, Natalie a STURMER, Leslie, 2018. Production and Performance of Triploid Oysters for Aquaculture. online. *EDIS*. roč. 2018, č. 4. ISSN 2576-0009. Dostupné z: <https://doi.org/10.32473/edis-fa208-2018>. [cit. 2024-02-18].

YU, Guanghui; LIU, Chunhong; ZHENG, Yingying; CHEN, Yingyi; LI, Daoliang et al., 2022. Meta-analysis in the production chain of aquaculture: A review. online. *Information Processing in Agriculture*. roč. 9, č. 4, s. 586-598. ISSN 22143173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2021.04.002>. [cit. 2024-03-29].

ZHANG, Xuelian a ONOZATO, Hiroshi, 2004. Hydrostatic pressure treatment during the first mitosis does not suppress the first cleavage but the second one. online. *Aquaculture*. roč. 240, č. 1-4, s. 101-113. ISSN 00448486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.07.004>. [cit. 2024-02-25].

ZHOU, Li a GUI, Jianfang, 2017. Natural and artificial polyploids in aquaculture. online. *Aquaculture and Fisheries*. roč. 2, č. 3, s. 103-111. ISSN 2468550X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2017.04.003>. [cit. 2024-02-15].