

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický

Diplomová práce

**Porovnání individuálního vývoje zralosti oocytů jikernaček
jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v průběhu
předvýtěrového období při odlišných teplotních podmínkách
odchovného prostředí**

Autor: Bc. Jindřiška Matějková

Vedoucí diplomové práce: Ing. David Gela, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Ing. Marek Rodina, Ph.D.

Studijní program a obor: Zootechnika, Rybnářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 3.

České Budějovice, 2016

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

V Českých Budějovicích dne 6. 5. 2016

.....
Bc. Jindřiška Matějková

Poděkování:

Tímto bych velmi ráda poděkovala vedoucímu Ing. Davidu Gelovi, Ph.D., i konzultantovi Ing. Marku Rodinovi, Ph.D., za jejich trpělivost, metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady a cenné připomínky při vypracování této diplomové práce.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta rybářství a ochrany vod
Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jindřiška MATĚJKOVÁ**
Osobní číslo: **V13N014P**
Studijní program: **N4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Porovnání individuálního vývoje zralosti oocytů jikernaček jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v průběhu předvýtěrového období při odlišných teplotních podmínkách odchovného prostředí**
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Cílem diplomové práce bude vypracování studie o vlivu teploty vody na vývoj zralosti oocytů jikernaček jesetera malého v průběhu předvýtěrového období v provozních podmínkách rybní lhně.

Stanovení individuální zralosti generačních jikernaček jeseterovitých ryb je nezbytnou podmínkou pro výběr jedinců optimálně připravených k řízené reprodukci. Nicméně relevantní informace o vlivu teploty vody jako základního faktoru pro dozrávání oocytů jsou nedostačující, aby bylo možno při znalosti a možnosti regulace vývoje teploty vody v odchovném prostředí predikovat jejich vývoj.

Studentka se v přípravné fázi zaměří na vyhledání a nastudování dostupné zahraniční i české jazyce vydané literatury týkající se zadaného tématu práce. Samostatně vypracuje rešerši z doporučené odborné literatury a z literatury studentkou vyhledané.

Provedení praktické části diplomové práce spočívá ve sběru a vyhodnocení potřebných údajů pro zadané téma:

Aktivní účast studentky při přípravě a průběhu experimentu dle dohody s vedoucím práce.

Vyhodnocení a zpracování dat ze získaných biologických vzorků.

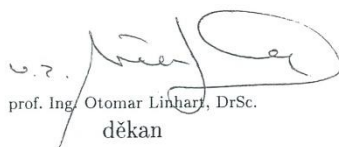
Návrh matematického modelu pro výpočet dosažení optimální zralosti jikernaček jesetera malého.

Vyhotovení diplomové práce dle schválených norem pro diplomové práce.

Rozsah grafických prací: **podle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **45-50 stran**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Conte, F. S., Doroshov, S. I., Lutes, P. B., Strange, D., Strange, E. M., 1988. Hatchery manual for the white sturgeon, Div. of Agricul. and Natural Resources University of California, USA, 1-103 s.
Dettlaff, T. A., Ginsburg, A. S, Schmalhausen, O. I., 1993. Sturgeon Fishes - Developmental Biology and Aquaculture (Translated by G.G. Gause and S.B. Vassetzky) Springer Verlag, XIII, Berlin-Heidelberg-New York, 300 s.
Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (Acipenser). Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 78, 24 s.
Hochleithner, M., 2004. Störe - Biologie und Aquakultur. AquaTech Publications, 9-222 s.
Chebanov, M. S., Galich, E. 2009. Workshop on Sturgeon Sexing and Gonad Staging. 6-th International symposium on sturgeon 2009, Wuhan, China. 47 s.
Kazanskii, B. N., Feklov, Yu. A., Podushka, S. B., Molodsov, A. N., 1978. Express metod for determining the degree of gonad maturity in sturgeon spawners. Rybnoe Khozajstvo 2: 24-27 s.
Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2000. Umělá reprodukce veslonosa amerického (*Polyodon spathula*). Edice metodik, 64: 1-15 s.
Rodina, M., 2006. Application of image analysis for the determination of nucleus position in sturgeon oocytes. Journal of Appl. Ichtyol., 22: 175-176 s.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. David Gela, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Konzultant diplomové práce: **Ing. Marek Rodina, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Datum zadání diplomové práce: **14. února 2014**
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2015**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta rybářství a ochrany vod
Katedra 728/II
370 00 Vodňany (2)


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2014

Obsah

1. Úvod	8
2. Literární rešerše	9
2.1. Jeseter malý	9
2.1.1. Taxonomické zařazení	9
2.1.2. Zeměpisné rozšíření.....	9
2.1.3 Charakteristika a popis druhu	10
2.1.4 Reprodukce jesetera malého	11
2.1.5. Význam jesetera malého	11
2.2. Akvakultura jeseterovitých ryb	12
2.3. Neuroendokrinní systém kontrolující reprodukci jeseterů.....	14
2.4. Vývoj gonád jeseterovitých	16
2.4. Metody stanovující pohlaví jeseterovitých ryb.....	17
2.4.1. Laparoskopie a přímá palpace.....	18
2.4.2. Endoskopie	18
2.4.3. Metoda pohlavních steroidů	18
2.4.4. Sonografie.....	19
2.4.5. Biopsie	19
2.5. Morfologie a vnitřní struktura ovocytů.....	20
2.5.1. Jikerné obaly.....	20
2.5.2. Mikropyle.....	21
2.5.3. Vnitřní prostor	22
2.6. Polarizační index.....	22
2.6. Vliv teploty okolního prostředí na ovulaci jeseterovitých	23

3. Materiál a metodika.....	26
3.1. Materiál	26
3.1.1. Místo experimentu	26
3.1.2. Experimentální ryby.....	26
3.2. Metodika	27
3.2.1. Teplotní režim.....	27
3.2.2. Biopsie	28
3.2.3. Vizualizace odebraných ovocytů	29
3.2.4. Měření ovocytů	29
3.2.5. Vyhodnocení výsledků	30
4. Výsledky	31
4.1. Porovnání skupin jikernaček	31
4.2. Výsledky podskupin.....	37
5. Diskuse	42
6. Závěr.....	45
7. Seznam použité literatury	46
8. Přílohy	53
9. Abstrakt.....	57
10. Abstract.....	58

1. Úvod

Jeseter malý (*Acipenser ruthenus*) je nejmenším původním druhem čeledi Acipenseridae na území České republiky. Z hospodářského hlediska se jedná o velmi významnou a zajímavou rybu. Jeho popularita spočívá především v jeho velikosti, poměrně rychlém růstu a časně pohlavní zralosti ve srovnání s jinými druhy jeseterovitých ryb. Je velmi vyhledávanou konzumní rybou, zejména díky své vysoké jakosti masa a také se z jeho jiker připravuje kvalitní kaviár. Jeseter malý je jedním z nejvíce chovaných druhů jeseterů pro komerční účely v celé Evropě a velmi často je rovněž používán ke křížení s ostatními druhy jeseterů. Od roku 1996 je jeseter malý zapsán v Červeném seznamu ohrožených druhů jako zranitelný druh a od roku 1998 je jedním z druhů uvedených v seznamu CITES II.

Mnoha druhům jeseterovitých ryb hrozí vyhynutí a zvládnutí jejich úspěšné umělé reprodukce nabízí řešení pro udržitelný rozvoj produkce jeseterů. V řízených podmínkách odchovného prostředí je mnoho faktorů, které ovlivňují jejich úspěšnou reprodukci. A právě teplota je jedním ze základních faktorů ovlivňující úspěšnou reprodukci ryb. Pro úspěšnou řízenou reprodukci chrupavčitých ryb je nutné správně porozumět vývoji a stupni zralosti ovocytů v předvýtěrovém období.

K určení zralosti jikernaček je v provozních podmínkách biopsie nepostradatelnou metodou, nicméně zároveň se jedná o způsob, který je z časového hlediska velmi náročný. Minimalizace množství prováděných biopsií by v chovu jeseterovitých ryb snížila časovou náročnost při přípravě generačních ryb k umělé reprodukci. Dalším velmi podstatným úkolem v managementu líhní je synchronizace ovulace jikernaček tak, aby nedocházelo k používání nedozrálých nebo naopak přezrálých jikernaček.

Cílem této diplomové práce je prozkoumat vliv teploty jako základního faktoru na dozrávání ovocytů jikernaček jesetera malého.

2. Literární rešerše

2.1. Jeseter malý

2.1.1. Taxonomické zařazení

Jeseter malý (*Acipenser ruthenus*) je řazen mezi paprskoploutvé ryby (Actinopterygii), do řádu jeseteři (Acipenseriformes), čeledi jeseterovití (Acipenseridae), rodu *Acipenser*. Čeleď jeseterovití v současné době čítá asi 27 druhů. Jesetera malého popsal poprvé Linnaeus již v roce 1758 (Nelson, 2006). V současné době je jeseter malý uveden v Červeném seznamu ohrožených druhů.

2.1.2. Zeměpisné rozšíření

Jeseter malý je potamodromním druhem střední a východní Evropy. V současné době obývá především řeku Dunaj a dolní části jejích větších přítoků. Jedná se zejména o přítok řek Moravy, Nitry, Hronu a Ipel' (Koščo a kol., 2010). Výskyt tohoto druhu je popsán také ve slovenském úseku řeky Tisy a jejích přítocích Latorica a Bodrog. Nedávno byl potvrzen opětovný výskyt jesetera malého ve středním úseku řeky Váh (Holčík a kol., 2006). Kromě říčních systémů se jeseter malý nachází také v Ladožském a Oněžském jezeře, která spadají do systému Baltského moře (Bemis a Kynard, 1997).

V databázi CITES (2000) jsou jmenovitě uvedeny konkrétní státy, v nichž je výskyt jesetera malého přirozený. Jedná se o Českou republiku, Rakousko, Bosnu a Hercegovinu, Bulharsko, Gruzii, Německo, Maďarsko, Kazachstán, Litvu, Lotyšsko, Moldávii, Rumunsko, Rusko, Slovensko, Slovinsko, Švýcarsko, Turecko, Ukrajinu a státy bývalé Jugoslávie (včetně Chorvatska a Srbska) (Pitkitch a kol., 2005).

V minulém století byl zaznamenán radikální úbytek počtu ulovených jeseterů (Pitkitch a kol., 2005). Příčina pravděpodobně tkvěla ve výstavbě příčných překážek na tocích, úpravami koryt, stavbou údolních nádrží, zhoršující se kvalitou vody a nadměrným rybolovem těchto ryb. Zmíněné příčiny zničily většinu třecích míst a potravních teritorií jeseterů a díky tomu došlo k vysokému snížení počtu jeseterů ve volné přírodě (Bloesch a kol., 2006, Holčík a kol., 2006, Guti a Gaebele, 2009). Je velmi obtížné zjistit hustotu populace jeseterů malých v jejich přirozeném prostředí. Soudě

podle statistik úlovků se nyní ovšem zdá, že hustota jeho populace ve slovenské a maďarské části Dunaje se zvyšuje (Williot a kol., 2002, Holčík a kol., 2006).

2.1.3 Charakteristika a popis druhu

Jeseter malý je nejmenším druhem podčeledi *Acipenserinae* a ve volné přírodě může dosahovat celkové délky 600 -700 mm a průměrné hmotnosti 6 – 6,5 kg. Ve výjimečných případech může dosáhnout délky až 1200 mm a hmotnosti až 17 kg. V porovnání s ostatními druhy jeseterů je jeseter malý krátkověkým druhem i přesto, že jeho nejvyšší doposud zaznamenaný věk byl 27 let (Guti a Gaebele, 2009).

Tělo má protáhlé, relativně nízké, dolní ret je rozpolcený, vousky jsou na průřezu okrouhlé, krátké a na vnitřní straně zpravidla obrvené a natažené dosahují k přednímu okraji úst. Profil hlavy je konkávní, hřbetní štítky mají dlouhý dozadu směřující hrot, který přesahuje základnu štítku. Kostěné štítky jsou tvořené pěti řadami, přičemž hřbetní štítky mají dlouhý a zpět obrácený hrot, který přesahuje délku základny štítku. Boční štítky jsou kosočtverečného tvaru a částečně se překrývají. Počet štítku je u jesetera malého vyšší než 50 a zároveň je základním determinačním znakem tohoto druhu (Lelek, 1987).

Hřbetní strana těla je zbarvena šedohnědě až zelenohnědě. Břišní strana těla je žluté až hnědé barvy, někdy může mít až narůžovělé odstíny. Hřbetní štítky jsou žlutavé a břišní a boční štítky jsou spíše bělavé. Lem prsních ploutví je bílý, což umožňuje rozlišit jesetera malého od ostatních druhů jeseterů. Ocasní ploutev je heterocerní (Baruš a Oliva, 1995).

Jeseter malý žije převážně jednotlivě, popřípadě ve skupinkách. V oblasti delt řek mohou jeseteři tvořit hejna, která kvůli potravě migrují do mořských oblastí (Kalmykov a kol., 2010). První potravou, kterou larvy čerstvě vykulených jeseterů malých konzumují, jsou malé formy máloštětinatců (*Oligochaeta*) a larvy čeledi pakomárovití (*Chironomidae*). Jak larvy rostou, jejich potrava se stává pestřejší a již v polovině léta se složení potravy neliší od dospělých (Greze, 1957). V přirozených podmínkách se tento druh živí převážně larvami jepic (*Ephemeroptera*), koreter (*Chaobridae*) a zejména chrostíků (*Trichoptera*). Ochotně ovšem přijímá téměř všechny hmyz, který dopadne na

vodní hladinu, malé bentické organismy včetně malých hlemýžďů a pijavic. V některých oblastech Volhy byla u tohoto druhu také pozorována konzumace jiker jiných druhů v trdlišťích (Ermolin, 1977).

2.1.4 Reprodukce jesetera malého

Pohlavní dospělosti dosahuje v přirozeném prostředí u samců ve věku 3 - 5 let, u jikernaček nejčastěji ve věku 5 - 6 let při velikosti 40 - 50 cm. K výtěru ryby migrují proti proudu a délka migrace závisí na hloubce vodního sloupce. Výtěr probíhá v období dubna až června při teplotách vody 10 – 17 °C a ryby se třou na štěrkovitý substrát. Samci bývají na trdlišťích obvykle dříve než samice. Relativní plodnost jikernaček je 20 000 – 30 000 jiker.kg⁻¹ živé hmotnosti ryby a jikry v průměru měří 1,8 - 2,8 mm (Gela a kol., 2012). Ve volné přírodě dochází ke křížení s ostatními druhy jeseterů, hlavně s jeseterem ruským a jeseterem hvězdnatým. Popsáni však byli i kříženci s jeseterem hladkým nebo jeseterem sibiřským. V akvakultuře je uplatňován uměle získaný kříženec vyzy velké a jesetera malého. Tento hybrid je nazýván „bestěr“ (odvozený z ruských názvů rodičovských druhů – beluga a sterlyad') a vyniká vysokou intenzitou růstu a brzkou pohlavní dospělostí (Baruš a kol., 1995).

2.1.5. Význam jesetera malého

Jeseter malý je od roku 1996 veden na Červeném seznamu ohrožených druhů IUCN (The IUCN Red List of Threatened Species) jako zranitelný druh a jeho početnost je stále klesající (Hilton - Taylor, 2000). Také je od 1. 4. 1998 jedním z druhů zapsaných na seznamu CITES. Nicméně i přes to je stále ve volné přírodě odlovován a podle statistik FAO bylo v roce 2012 odloveno 43 tun, přičemž většina ryb pocházela z povodí řeky Dunaje. V akvakulturním chovu bylo téhož roku vyprodukováno 31 tun ryb (FAO, 2015).

Jeseter malý je z hospodářského hlediska velmi významnou a zajímavou rybou. V současné době se těší vysoké oblibě jako tzv. dekorační ryba (Stejskal a kol, 2013). Dále je velmi vyhledávanou konzumní rybou, díky své vysoké jakosti masa. A zároveň je z jeho jiker připravován vysoce kvalitní kaviár (Spurný, 1998).

Jeseter malý je společně s dalšími třemi druhy jeseterů, kterými jsou jeseter sibiřský (*Acipenser baeri*), jeseter bílý (*Acipenser transmontanus*), a jeseter jadranský (*Acipenser naccarii*) a jedním křížencem (bestěr) nejvíce chovaným druhem jeseterů pro komerční účely v Evropě, konkrétně pro křížení s ostatními, rychleji rostoucími druhy jeseterů (Bronzi a kol., 1999). Jeho nespornou výhodou je také to, že je druhem, který je možné využít v duokultuře s lososovitými rybami chovanými v intenzivních podmínkách recirkulačních systémů. Tento chov je výhodný zejména v tom, že jeseteři svou přítomností pomáhají výhodněji využívat aplikované krmivo, a to zejména to krmivo, které hlavní obsádka lososovitých opomíjí. Potom je jesetery možné chovat i v dalších částech recirkulačních systémů (např. přítokový nebo odtokový kanál), kde mohou využívat již zmíněné zbytkové krmivo a také snižovat množství nárostů (Stejskal a kol., 2013). Další možností je chov jesetera malého v podmínkách recirkulačního systému společně s candátem obecným (*Sander lucioperca*). Přítomnost jesetera malého v tomto případě vedla k vyšší čistotě v odchovných žlabech díky tomu, že jeseteři využívali krmivo, které candáti nespotřebovali a které dopadlo až na dno nádrže (Kozłowski a kol., 2014).

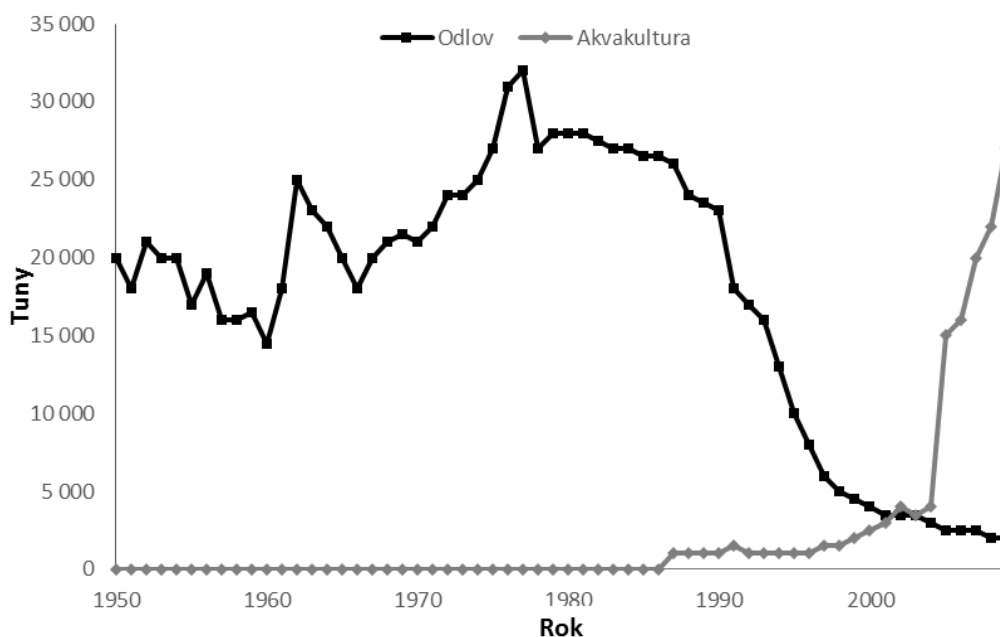
2.2. Akvakultura jeseterovitých ryb

Nadměrné využívání přírodních populací jeseterů k výrobě kaviáru zapříčinilo jejich rapidně snižující se stavy ve volné přírodě (Bronzi a kol., 2011). Světového maxima v počtu úlovků jeseterů bylo dosaženo v roce 1977, kdy bylo z volných vod uloveno 32 078 tun všech druhů jeseterů. Této hodnoty již nikdy nebylo dosaženo a od tohoto roku se populace jeseterů ve volných vodách rapidně snížily. Nicméně rybolov jeseterů měl významnou komerční a sociální hodnotu (Birstein, 1997). Vývoj rybolovu a akvakultury jeseterovitých je znázorněn v grafu č. 1.

Jak populace jeseterů ve volné přírodě klesala a na seznamu ohrožených druhů jména jeseterů přibývala, cíle akvakultury se přesouvaly a rozšiřovaly zejména o komerční chov a zachování rybích populací ve volné přírodě. Nyní se chov jeseterovitých velmi rychle vyvíjí zejména v produkci kaviáru pro mezinárodní trh (Wuertz a kol., 2009). V současné době se nejméně deset zemí v Evropě, Asii, Jižní a Severní Americe zabývá chovem jeseterovitých zejména pro produkci kaviáru. Z tohoto

důvodu se jeseteři stali významnými druhy v akvakultuře (Bronzi a kol., 2011). Chov jeseterů nejčastěji probíhá v nádržích kruhového či obdélníkového tvaru, ale v současné době se soustřeďuje také do recirkulačních akvakulturních systémů (Sion a kol., 2011).

První umělá reprodukce jesetera malého byla provedena v Rusku v roce 1869 (Owsjannikow, 1871) a byla následována dalšími úspěšnými pokusy i u ostatních druhů jeseterů v Severní Americe a západní Evropě (Dettlaf a kol., 1993). Jeseter malý je významným komerčním druhem. Stal se vyhledávaným především pro svoji velikost, rychlý růst a časnou pohlavní dospělost ve srovnání s ostatními druhy jeseterů (Semenkova a kol., 2006). V současné době se v akvakultuře ke komerčním účelům chová nejméně 12 druhů jeseterů a jejich hybridů. Hybridi tvoří přibližně polovinu z tohoto výčtu. Akvakultura jeseterů je rozvinutá ve více než 35 státech, přičemž chov jesetera malého probíhá přibližně v 15 zemích (Bronzi a kol., 2011).



Graf č. 1: Grafické znázornění vývoje rybolovu a akvakultury jeseterovitých ryb (modifikováno dle FAO).

2.3. Neuroendokrinní systém kontrolující reprodukci jeseterů

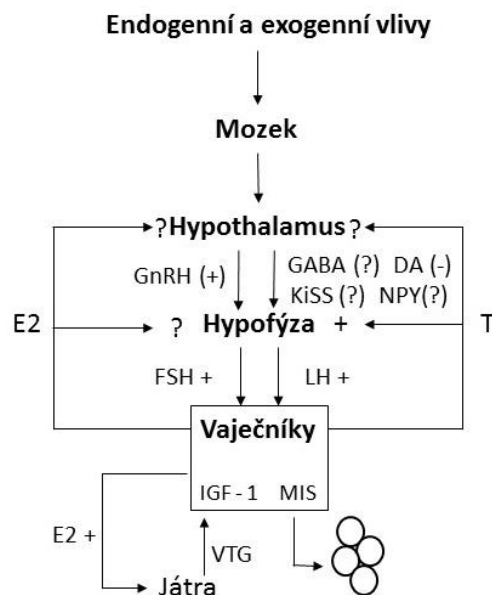
Ačkoliv o reprodukčním neuroendokrinním systému jeseterovitých ryb je méně informací, než je tomu u ryb kostnatých (*Teleostei*), existuje všeobecná podobnost v regulačních mechanismech reprodukce mezi jesetery a paprskoploutvými. Velmi málo informací je ovšem známo o neurotransmiterech a neurohormonech podílejících se na přenosu signálu u jeseterovitých i přesto, že na toto téma bylo provedeno několik studií zabývajících se jejich lokací v mozku jeseterů (Piñuela a Northcutt, 2007).

U jeseterovitých byly identifikovány dvě formy gonadotropin uvolňujícího hormonu (GnRH), a to konkrétně savčí gonadotropin uvolňující hormon (mGnRH) a kuřecí (cGnRH) (Lescheid a kol., 1995). Synteticky vyrobený analog GnRH (GnRH_a) je efektivně využíván k vyvolání ovulace a spermiace u jeseterů a veslonosů chovaných v zajetí. GnRH a neurotransmitter dopamin interagují s hypofýzou a regulují syntézu a uvolňování gonadotropinů (GTH) (Paragamian a Wakkinen, 2002). Dva typy hypofyzárních gonadotropinů stGTH I a stGTH II byly poprvé popsány u jesetera bílého, jesetera sibiřského, jesetera ruského (*Acipenser gueldenstaedtii*) a čínského (*Acipenser sinensis*) (Webb a Doroshov, 2011). FSH řídí zahájení gametogeneze a vitelogeneze u jikernaček, zatímco LH stimuluje zrání, ovulaci a spermiaci. Ve srovnání s kostnatými rybami je velmi málo známo o regulaci uvolňování gonadotropinu u jeseterovitých ryb, pouze jedna studie indikuje inhibiční roli dopaminu u jeseterů (Pavlick a Moberg, 1997). Kisspeptiny, kyselina gama aminomáselná, neuropeptid Y (NPY) a gonadální růstové faktory hrají důležitou roli v regulaci hypofyzárních gonadotropinů u kostnatých, nicméně nebyly doposud dostatečně zkoumány u chrupavčitých.

Pohlavní steroidy, jako je testosteron (T), 11 - ketatestosteron (11 - KT), estradiol-17 β (E2), Progesteron (P4), 17,20 β - dihydroxy - 4 - pregnen - 3 - on (17,20 β - P), a 17,20 β , 21 - dihydroxy - 4 - pregnen - 3 - onu (20 β -S), byly měřeny v plazmě jeseterů během gametogeneze. Plazmatické koncentrace steroidů jsou u jeseterů nejzjistitelné až do doby diferenciacce pohlavních žláz. Zvýšená koncentrace T a 11 - KT v plazmě je u mlíčáků v době rozmnožování spermatogonií a u jikernaček před nástupem vitellogeneze (Feist a kol., 2004). Plazmatické koncentrace androgenů zůstávají zvýšené po celou dobu spermatogeneze a ovogeneze a k jejich snížení dochází až po ovulaci a spermiaci. Plazmatické koncentrace E2 jsou zvýšené v období růstu ovocytů a postupně

se snižují před samotnou ovulací. Nicméně pro zrání pohlavních buněk a k ovulaci koncentrace E2 a T v krevním oběhu být stále nad hladinu bazální úrovně. Identita zrání indukujících steroidů (MIS) nebyla doposud u jeseterů stanovena, nicméně například P4, 17,20b - P, 20b - S, a 11 - deoxykortizolu mohou fungovat právě jako MIS. Celkové znalosti o pohlavních steroidech u jeseterovitých ryb jsou velmi omezené a o jejich funkci a regulaci je velmi málo známo. Schéma znázorňující endokrinní řízení ovulace je zobrazeno na obrázku č. 1.

Vitelogenin (VTG) je prekurzorem žlutkového proteinu a syntetizuje se v játrech v závislosti na koncentraci E2. VTG je uvolněn do krevního řečiště a za pomoci speciálních receptorů enzymaticky převádí bílkoviny vaječného žlutku v cytoplazmě ovocytu na krystalické žlutkové destičky. Na rozdíl od kostnatých ryb je vaječný žloutek jeseterovitých intracelulární a má krystalickou strukturu po celou dobu raného vývoje (Dettlaf a kol., 1993).



Obr. č. 1: Diagram znázorňující endokrinní řízení ovulace u jeseterovitých (modifikováno dle Webb a Doroshov, 2011). GnRH – Gonadotropin uvolňující hormon, FSH - Folikulostimulační hormon, E2 – Estradiol, VTG – Vitelogenin, IGF- 1 – receptor regulující vitelogenezi, MIS - Steroidy indukující dozrávání, KiSS – kisspeptiny, GABA – gamma aminomáselná kyselina, LH - Luteinizační hormon, T – testosteron.

2.4. Vývoj gonád jeseterovitých

Vývoj gonád jeseterovitých je velmi pomalý (Dettlaff a kol., 1993). Jeseteři jsou diferencováni gonochoristé (nerozlišené gonády jsou přímo diferencovány v testes nebo ovaria), ale vzácně se můžeme setkat i s intersexními jedinci, kdy oba typy gonád koexistují téměř jedinci (Van Eenennaam a Doroshov, 1998). K pohlavní diferenciaci dochází pozdě, mezi 6 měsícem až 5 lety, podle druhu, geografických faktorů a faktorů životního prostředí (Akhundov, 1988). Vývoj gonád jeseterovitých je rozdělen do 5 stádií.

- **I. Stadium** - Ovaria v I. stadiu vývoje u jeseterů mají formu tukové tkáně, ve které se nachází pruh zárodečné tkáně, který je více zřetelný v kaudální části. Později dochází k tvorbě příčných lamel po celé délce pohlavních žláz. Pohlavní buňky jsou ve stadiu protoplazmatického růstu.
- **II. stadium** - Druhé stadium je rozděleno na další tři etapy. V této fázi dochází k hromadění tuku. Barva ovarii je v tomto stadiu od narůžovělé až po žltorůžovou. První etapou je tzv. semi - fatty fáze, ve které pokračuje ukládání tuku, nejprve do ovarialních lamel, což se projevuje jejich zvýrazněním nad povrch tukové tkáně, následně protučnění postupuje na mediální a laterální stranu gonády, až tvoří tuk více než 50% hmotnosti ovaria. Další fází je tzv. tučná fáze (tzv. fatty fáze), při které pokračuje ukládání tuku na laterální i mediální straně ovaria, zárodečná ovarialní tkáň je zcela překryta záhyby tukové tkáně. Poslední etapou je 2 - 3 fáze. Vývoj v tomto stadiu je spojen s nástupem vitelogeneze. Probíhá syntéza a ukládání žloutku v ovocytech, tuková tkáň ubývá, je zřetelná lamelární stavba zárodečné tkáně, ovocyty narůstají na velikosti a mají nažloutlou barvu (Chebanov a Galich, 2009).
- **III. stadium** - Přejít do tohoto stádia je charakteristický růstem folikulů, ztenčováním ovarialních lamel, prodlužováním gonády a zvětšováním objemu gonády. Protučnění gonády ubývá. Rozměr nepigmentovaných ovocytů je zpočátku 0,5 - 0,7 mm, později narůstají až na velikost 1,6 – 2 mm, začíná

pigmentace ovocytů, jádro ovocytu je na řezu špatně zřetelné. Na konci III. stádia převládají pigmentované ovocyty (Goncharov a kol., 2009).

- **IV. Stadium** - Ovocyty jsou kompletně pigmentované a jejich velikost je téměř definitivní. Polarizace jádra ovocytu na řezu je již jasně zřetelná. Zbytek protučnění je stále zachován, především na mediální straně gonády a pokračuje ukládání tuku na laterální i mediální straně ovaria.
- **V. stadium** – V tomto stadium stále pokračuje ukládání tuku na laterální i mediální straně ovaria a zárodečná ovariální tkáň je zcela překryta záhyby tukové tkáně.
- **VI. stadium** - Dochází k regeneraci ovariální tkáně, resorbci nevytřených jiker, vitelogenímu růstu ovocytů od II. stádia (Chebanov a Galich, 2009).

2.4. Metody stanovující pohlaví jeseterovitých ryb

Determinaci pohlaví u jeseterovitých ryb je možná několika cestami. Tyto způsoby determinace lze rozdělit do dvou skupin, a to na invazivní a neinvazivní. Invazivní metody jsou ty postupy, při nichž do organismu pronikají vyšetřovací nástroje, zatímco u neinvazivních metod do těla organismu neproniká žádné cizí těleso.

Mezi invazivní metody zařazujeme biopsii sondou, přímou palpaci, laparoskopii a endoskopii. Do neinvazivních metod zahrnujeme analýzu steroidních hormonů, morfometrii a určování morfologických znaků a sonografii. Obecnou nevýhodou pro všechny anatomické metody je jejich invazivnost. Penetrace do tělní dutiny může způsobit následný špatný fyziologický stav zkoumané ryby, případně může být i velmi silným stresujícím faktorem. Kromě těchto nevýhod tyto techniky vyžadují následující kontrolu zdravotního stavu ryb či šití (Chebanova a Galich, 2009).

2.4.1. Laparoskopie a přímá palpace

Pohlaví u jeseterů je možné velmi snadno rozlišit přímou palpací. Tato metoda zahrnuje opatrné vsunutí prstu přes řez do tělní dutiny a určení pohlaví pohmatem. Ovaria jsou na pohmat hrubé, zatímco testes je hladké. Rozdíly mezi testes a ovariem jsou dobře rozpoznatelné ve všech fázích zralosti. Je uváděno, že odborník může provést určení pohlaví až u 300 – 500 ryb za 1 den (Bruch a kol., 2001).

U laparoskopické techniky, je pozorování prováděno malým řezem (2 cm) v dutině břišní. Přímé pozorování gonád se provádí za použití tzv. otoskopu se světelným zdrojem (Chebanov a Galich, 2009).

2.4.2. Endoskopie

Endoskopie je moderní metoda, kterou lze studovat pohlavní žlázy jeseterů. Tato technika umožňuje vizuální pozorování gonád za využití chirurgických diagnostických nástrojů využívaných pro lékařské prohlídky močového - pohlavního systému, jako je cystouretroskopie nebo boroskopie. Doba jednoho vyšetření obvykle trvá v rozmezí od 1 minuty do 10 minut.

Sonda je zaváděna do tělní dutiny prostřednictvím vpichu (jako při biopsii) nebo prostřednictvím močopohlavní papily. Vyšetření je prováděno pomocí optického systému a rozlišení detailní struktury tkáně je velmi dobře vizualizované (Safronov a kol., 2006).

2.4.3. Metoda pohlavních steroidů

Alternativní neletální metodou pro rané určení pohlaví ryb je stanovení hladiny pohlavních steroidů, jako je T, estradiol, 11 - ketatestosteron, z krevního vzorku. U jeseterů lze průkazné výsledky získat již ve věku 12 měsíců (Akhundov, 1997). Bohužel, pro finanční náročnost zpracování vzorků a nutnost individuálního značení chovného hejna v prvním roce není tato metoda ve světě často využívána.

Webb a kol., (2001) uvedli, že obsah T v séru u mlíčáků v průběhu II. stupně zralosti byl vyšší, než tomu je u jikernaček. Toho zjištění lze tudíž využít pro časné rozlišení pohlaví a stupně zralosti

2.4.4. Sonografie

Sonografie je metoda založená na využití ultrazvukových vln a různé rychlosti jejich šíření v odlišných typech tkání. K provedení sonografického vyšetření se provádí speciální sondou nazývanou jako tzv. transduktor, kterou pohybuje po stranách a na spodní části břišní dutiny ryby a zároveň na obrazovce přístroje sledujeme a vyhodnocujeme obraz tkání.

Mezi výhody toho způsobu vyšetření patří zejména jeho šetrnost vůči rybám, rychlost provedení a přesnost. Mezi nevýhody naopak můžeme zařadit především finanční náročnost na technické vybavení a dokonalou znalost anatomie

2.4.5. Biopsie

Biopsie gonád je způsob, který zahrnuje odběr malého vzorku gonadální tkáně pomocí speciální sondy přes břišní stěnu. Použití této metody je omezeno obecně k diagnostickému odběru vzorků, počínaje zralostí II - III a III. Je doporučeno použít velikost odebraného vzorku jiker jako determinant pro selekci generačních jikernaček. Dalším kritériem, které lze využít pro výběr generačních ryb hmotnost jiker v odbraném vzorku (Williot, 2002). U nezralých vzorků se posouzení odebraného vzorku provádí vizuálně. K lepšímu rozlišení tuku a testikulární tkáně by měly být získané vzorky umístěny do 4% formalínu. Tuková tkáň se v tomto roztoku odděluje a plave na hladině, zatímco testikulární tkáň zůstává na dně (Chebanov a Galich, 2009).

K provedení biopsie se používá speciální odběrová sonda, tzv. trokar. Jeho velikost musí být vždy přizpůsobena k druhu ryby a očekávané velikosti ovocytů. Penetrace dutiny břišní se provádí dezinfikovanou sondou, která se zasune do dutiny břišní dostatečně hluboko a šroubovitým otočením sondy se odebere vzorek tkáně. Místo vpichu je nutno vždy ošetřit dezinfekčním prostředkem. Biopsický vzorek se pozoruje dvěma způsoby. Prvním z nich je bezprostřední makroskopické posouzení a druhým způsobem je mikroskopické pozorování v nativním stavu (Gela a kol., 2008). Pro následnou analýzu zralosti ovocytů ve 3. – 4. vývojovém stadiu se biopsický odebraný vzorek fixuje v Sérově roztoku (složení na 100 ml: 60 ml ethanolu 96%, 30 ml formaldehydu 36%, 10 ml ledové kyseliny octové 99%) (Rodina, 2006).

Biopsie je technika časově náročná a v případě nepříznivých podmínek může mít za následek infekční onemocnění ryb a v důsledku následných infekcí může docházet i k ojedinělým úhynům ryb (Chebanov a Galich, 2009). I přes veškeré nevýhody zůstává biopsie nejspolehlivější a nejpřesnější metodou určení stádia pohlavní zralosti u jeseterovitých ryb (Chapman a Park, 2005). Nicméně je nutné poznamenat, že za dodržení hloubky a směru vpichu je tato metoda pro ryby poměrně bezpečná a k hojení místa vpichu dochází v průběhu několika týdnů (Gela kol., 2008).

2.5. Morfologie a vnitřní struktura ovocytů

Ovocyty jeseterovitých ryb jsou většinou kulovité nebo mírně protáhlé a převážně hnědošedivé barvy. Barva se liší v jednotlivých částech jikry, což odráží jeho vnitřní strukturu (Dettlaf a kol., 1993). Typickým znakem jiker jeseterovitých je ve středu animálního pólu světlá polární skvrna, která je obklopená tmavými soustřednými kruhy (Dettlaf a kol., 1993). Průměr světlého polárního místa, šířka a intenzita pigmentace soustředných kruhů a světlé oblasti mezi kroužky se značně liší nejen u jiker od různých ryb, ale také u jiker od stejné ryby (Cherr a Clark, 1982).

Velikost zralých jiker je rozdílná, a to dokonce i u jikernaček stejného druhu. Bylo také prokázáno, že na velikost jiker jeseterů má vliv dědičná informace, dále je ovlivněna velikostí jikernačky, stářím, složením přijímané potravy a faktory prostředí (Chapman a Eenennaam, 2007).

2.5.1. Jikerné obaly

Jikry jeseterů jsou kryty silným obalem, chránícím jikry před mechanickým poškozením a chemickými látkami (Esmaeili a Johal, 2005), zabezpečuje přichycení jikry k výtěrovému substrátu, funguje jako atraktant spermií, má antibakteriální ochranou funkci a také je jednou z možných prevencí před polyspermií. Jikerný obal je složen ze tří základních po sobě jdoucích poměrně silných vrstev: nejsvrchnější alveolární vrstva s rosolovitou vrstvou, *zona radiata externa* a *zona radiata interna* společně s mikrokulkovitou vrstvou a vrstvou kortikálních alveol. Ve všech třech klíčových vrstvách jsou elementárním stavebním prvkem svazky horizontálně orientovaných vláken

prostoupených vertikálně směřujícími póry (kanálky), které zajišťují komunikaci jikry s vnějším prostředím (Hochleithner, 2004).

Nejsvrchnější vrstvou je rosolovitá vrstva, skládá se z jemně vločkovitého materiálu, pokrývá celý povrch jikry a ucpává póry alveolární vrstvy a mikropyle (Pšenička a kol., 2010). Tato vrstva jikru hydratuje a po styku s vodou zvyšuje její lepivost. Rosolovitá vrstva se po kontaktu s vodou obsahující Ca^{2+} a nebo Mg^{2+} ionty brzy rozpouští (Cherr a Clark, 1984, Pšenička a kol., 2010).

Alveolární vrstva je u chrupavčitých ryb 24 - 63 μm široká a prostoupená mnoha vertikálně orientovanými kanálky. Jejich průměr je větší než u pórů v *zona radiata externa* a *zona radiata interna*. Alveolární vrstva navazuje na přilehlou *zonu radiata externa* (Siddique a kol., 2014).

Zona radiata externa je obal o šířce 25 - 59 μm , který je složen z horizontálně orientované sítě vláken protknutou kanálky. Vlákná jsou ve srovnání s níže ležící vrstvou *zona radiata interna* širší a vzájemně méně hustě propojeny (Debus a kol., 2008).

Zona radiata interna je nejspodněji položenou vrstvou ovocytu a je 14 - 25 μm široká (Debus a kol., 2008). Skládá se z několika více či méně horizontálně orientovaných vrstev protkaných podélnými vlákny tvořící svazky tohoto vláknitého materiálu. Někteří autoři popisují pod *zona radiata interna* v cytoplazmatické membráně ovocytu vrstvu mikrokloků též nazývanou extra oocyte matrix, slitlike nebo thin space (Aizenshtadt a Dettlaff, 1972; Le Menn a Pelissero, 1991). Tato vrstva široká 1 μm , obsahuje četné mikroklokky prostupující *zona radiata interna* a jikernou cytoplazmu (Siddique a kol., 2014).

2.5.2. Mikropyle

Mikropylární kanálky se u jiker jeseterovitých nacházejí v oblasti animálního pólu bez přesného uspořádání a jejich prostřednictvím mohou spermie proniknout do cytoplazmy jikry. Mikropyle je specializované dosedové místo spermie, cílový orgán s konkrétním receptorem pro splynutí spermie a jeho ultrastrukturní vlastnosti se mohou mezi jednotlivými druhy lišit (Kudo, 1982). Srovnání ultrastruktury mikropylí mezi jednotlivými jikrami různých druhů jeseterů je v popředí zájmu. Díky této srovnávací

studii můžeme totiž například určit druh kaviáru. Mikropylární kanál se směrem do jikry zužuje a odpovídá tvaru písmene V, který v úrovni vrstvy *zona radiata interna* tvoří rozšiřující se ampuli. Mikropylární ampule je z části vyplněná cytoplazmou ovocytu v podobě tzv. cytoplazmatického výběžku (Pšenička a kol., 2010). Počet mikropylí se mezi jesetery liší v závislosti na druhu, ale jejich množství se liší i u jedné jikernačky (Ginsburg, 1987; Podushka, 1993). U jesetera malého se počet mikropylárních otvorů pohybuje v intervalu 5 - 13 (Dettlaff a kol., 1993).

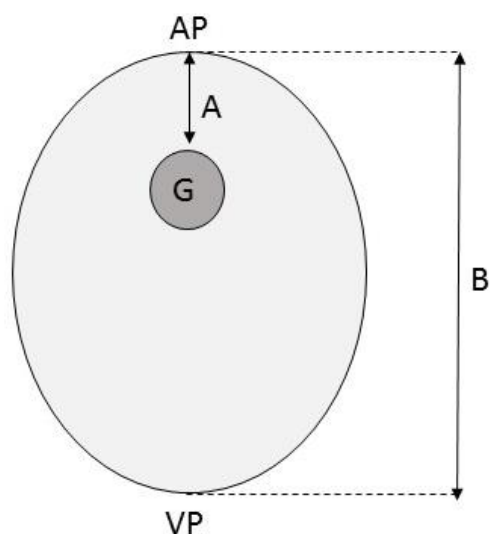
2.5.3. Vnitřní prostor

Vnitřní prostor jikry je vyplněný ovocytární cytoplazmou s velkým množstvím nutričních látek, které jsou nepostradatelné pro správný následný embryonální vývoj. Vnitřní prostor ovocytu má výrazně bipolární strukturu: jeho vegetativní část obsahuje žloutkové granule a velké tukové kapičky, přičemž prostor animální obsahuje většinu objemu cytoplazmy s mnohem nižší koncentrací nepatrných žloutkových granulí a malých tukových kapiček s rozpuštěným jádrem ovocytu (Siddique a kol., 2014).

Jádro ovocytu se během ovogeneze přemísťuje k animálnímu pólu, kde se před ovulací jikry karyoplazma jádra rozpadá a tvoří síť vločkovité struktury, která obsahuje centrozom a hydrofilní koloidy. Rozpuštěné jádro zralé a oplození schopné ovulované jikry se nachází v 2. metafázi meiózy (Dettlaff a kol., 1993).

2.6. Polarizační index

Spolehlivým způsobem pro selekci jikernaček vhodných k výtěru je určení polohy jádra ve vztahu k průměru ovocytu (Chebanov a Galich, 2009). K tomuto posouzení lze využít dvě základní metody. Prvním způsobem je vizuální posouzení ovocytu a druhou, přesnější metodou, je výpočet tzv. polarizačního indexu (PI). Ovocyty s jádrem blízko k okraji nebo v blízkosti vnějších membrán ovocytu mají největší pravděpodobnost podstoupit ovulaci. Znázornění jádra a způsob měření je vyobrazen na obrázku č. 2.



Obr.č. 2: Ovocyt jeseterovitých znázorňující pozici jádra a způsob měření. G - jádro, VP - vegetační pól, AP - animální pól, A – vzdálenost jádra od membrány, B – vzdálenost mezi animálním pólem a vegetačním pólem (upraveno dle: Coppens, 2007).

PI je vypočítán rovnicí $PI = A/B$, kdy optimální výsledek je v intervalu 0,06 - 0,07. Hodnoty PI nižší než 0,02 – 0,01 ukazují na ovocyty přezrálé a naopak hodnoty vyšší než 0,15 - 0,1 signalizují ovocyty málo zralé a vhodné k další kontrole za několik týdnů (Gela a kol., 2008). Pro posouzení migrace jádra ovocytu lze využít procentuální vyjádření posunu. To lze vyjádřit dle vzorce:

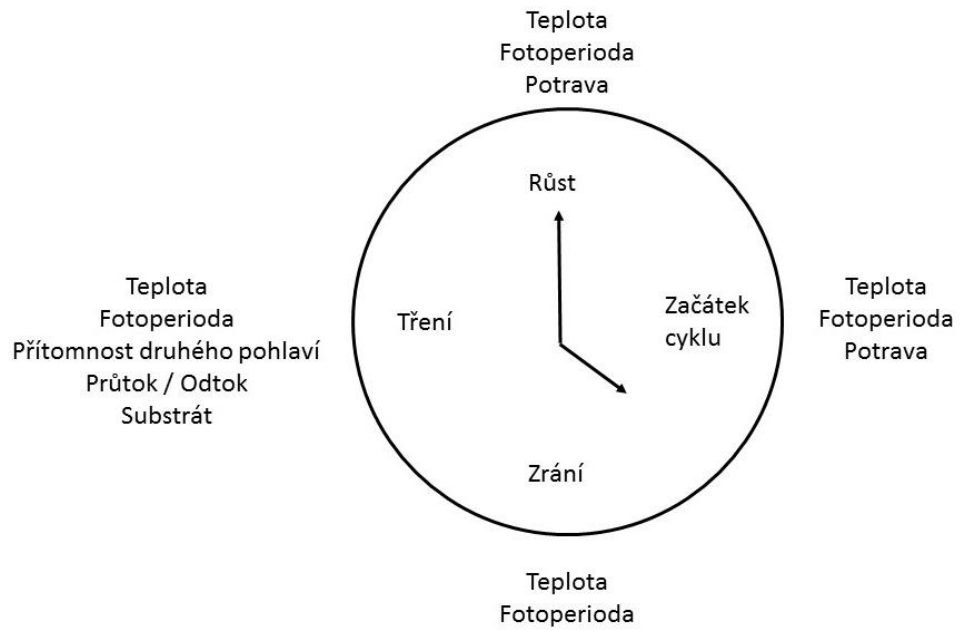
$$\% \text{ pohybu jádra} = (1. PI - 2. PI) / 1. PI * 100 \text{ (Rybníkár a Mareš, 2013).}$$

2.6. Vliv teploty okolního prostředí na ovulaci jeseterovitých

Sezónní faktory environmentálního prostředí, jako je fotoperioda či teplota vody, hrají velmi důležitou roli v gametogenezi a výtěru jeseterovitých ryb. Jednou z hlavních překážek v rozvoji akvakultury u těchto ryb je jejich vysoká termosenzitivita vaječnicků v průběhu pozdní fáze ovogeneze, která je největší zvláště u druhů nebo populací, které podstupují třetí migraci v podzimním období, jako jsou jeseter ruský (Dettlaf a kol., 1993) nebo jeseter bílý (Webb a kol., 2001). Tato vysoká citlivost na

teplotu životního prostředí nastává v průběhu pozdní vitelogeneze a v období migrace jádra. Například u jikernaček jeseterů bílých dochází k ovariální atrezii (zániku), jsou-li ryby vystaveny teplotám 15 °C a vyšší během pozdních podzimních či zimních měsíců před jarním třením ryb. Teplotou vyvolaná folikulární atrezie v pozdní vitelogenezi u jeseterů se projevuje dramatickým poklesem plazmatických pohlavních hormonů a rychlou degenerací celých hlouček vitelogenních folikulů (Linares-Casenave a kol., 2002). Ruští vědci byli obeznámeni s tímto problémem a vyvinuli vernalizační techniku (držení ryby v chlazené vodě) pro reprodukci teplotně senzitivních druhů jeseterů (Dettlaf a kol., 1993). Tato metoda spočívá v ochlazení vody v pozdní fázi vitelogeneze přibližně o 4 °C. Díky tomuto způsobu může být produkce kaviáru soustředěna do regionů, kde voda o této teplotě není k dispozici. Nicméně komerční využití tohoto systému je velmi nákladné (Williot a kol., 2001).

Skutečnost, že při mírném zvýšení teploty v průběhu předvýtěrového období dochází ke snížení plazmatického obsahu T a E2, které je následováno ovariální regresí, naznačuje, že teplota vody je regulačním faktorem závěrečných fází gametogeneze jeseterů. Je nutno poznamenat, že masivní ovariální regrese a poruchy tření byly hlášeny také u volně žijících populací jeseterů zasažených výstavbou přehrad a následných změn teplotních režimů v tocích (Dettlaf a kol., 1993). Lepší pochopení úlohy teploty vody při odchovu jeseterů hraje klíčovou roli pro akvakulturu jeseterovitých ryb a zachování jejich populací ve volné přírodě (Webb a Doroshov, 2011). Přehledné schéma vlivu endogenních a exogenních faktorů na biologické hodiny je znázorněno na obrázku č. 3.



Obr. č. 3: Endogenní a exogenní faktory ovlivňující biologické hodiny jeseterovitých (změněno dle: Webb a Doroshov, 2011).

3. Materiál a metodika

3.1. Materiál

3.1.1. Místo experimentu

Pokus byl realizován na Genetickém rybářském centru (GRC) Fakulty rybářství a ochrany vod ve Vodňanech v neklimatizované žlabovně sezónní líhně. Hlavním zdrojem vody pro objekt je řeka Blanice, omezeně lze využívat průsakovou podpovrchovou vodu čerpanou do retenční nádrže ze studně o hloubce 4 m a dechlorovanou vodu pitnou.

Žlabovna je vybavena plastovými vaky o rozměrech 400 x 150 x 90 cm pro finální přípravu generačních ryb před reprodukcí, její vlastní provedení a pro částečnou rekonvalescenci ryb po zákroku. Každý vak má možnost individuálního regulovaného elektroohřevu o výkonu 1500 W. Pro zvýšení úrovně ve vodě rozpuštěného kyslíku je do každého vaku umístěn plastový válec s pryžovou perforovanou membránou o délce 75 cm a maximální kapacitou 90 litrů vzduchu za minutu. Zdrojem tlakového vzduchu je rotační dmychadlo. Úplným zakrytím hladiny v nádržích silnou fólií se snižují tepelné ztráty vody.

3.1.2. Experimentální ryby

Pro provedení vlastního experimentu byly zvoleny pohlavně dospělé jikernačky jesetera malého z vlastního chovu GRC. Důvodem této volby je možnost zařazení dostatečného počtu jedinců do pokusu a celkové vlastní realizovatelnosti tématu v podmínkách, které fakulta má.

Generační a remontní chrupavčité ryby jsou většinu roku chovány v průtočných sádkách, které náleží objektu GRC. V průběhu podzimního období se po výlovu ryby přesunuly přímo do žlabovny, kde byly umístěny do manipulačního bazénu. Všechny ryby v genofondu byly již v předcházejících letech označeny individuálními pasivními mikročipovými traspondery a ploutevními přívěsnými značkami s kódem, což umožnilo jejich individuální sledování v průběhu prováděného experimentu.

Rybám bylo i v zimním období podáváno v zachovné dávce jednou až dvakrát týdně průmyslově vyráběné krmivo určené speciálně pro jeseterovité ryby. Tato suchá dieta se skládala z krmiva firmy Coppens, typu Steco Supreme 10/3 a Steco Supreme 10/4,5.

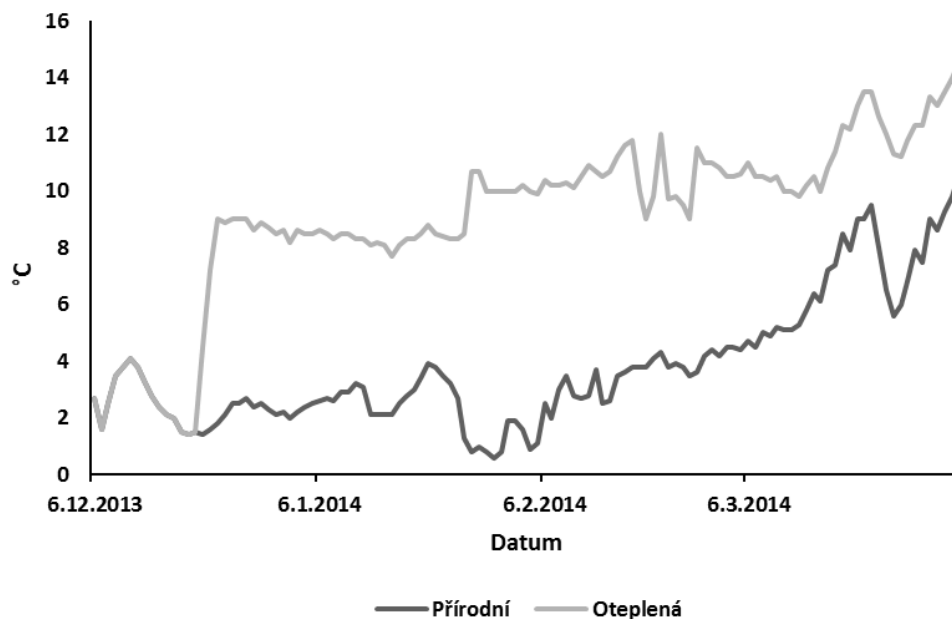
3.2. Metodika

3.2.1. Teplotní režim

Po první biopsii se ryby náhodně rozdělily do dvou skupin. Do první skupiny držené na oteplené vodě se umístilo 31 jikernaček a do skupiny vystavené vodě o přírodní teplotě se dalo 42 kusů jikernaček jesetera malého.

Experiment započal dne 6. 12. 2013 s teplotou vody 2,7 °C pro obě skupiny a prvních patnáct dní se udržovala na shodné hodnotě pro obě skupiny. Od 21. 12. 2013 byla u skupiny určené jako „teplotně regulovaná“ varianta teplota vody postupně navyšována. Jikernačky byly drženy ve dvou skupinách s tímto teplotním rozlišením až do 4. 4. 2014, přičemž u nahříváných ryb se teplota poslední den experimentu zaznamenala na hodnotě 14,5 °C a u druhé varianty na 10,5 °C.

Teplota vody v nádržích byla zapisována manuálně (rtuťovým laboratorním teploměrem s přesností 0,1 °C) vždy dvakrát denně a její zaznamenávání probíhalo po celou dobu experimentu. Vývoj teplot v rámci celého pokusu je zaznamenán v grafu č. 2.



Graf č. 2: Vývoj teplot v průběhu experimentu

3.2.2. Biopsie

V průběhu celého experimentu byly provedeny celkem 4 biopsie. S výjimkou druhé biopsie, se všechny vzorky vždy odebraly v průběhu jednoho dne. První biopsie probíhala na počátku experimentu, a to dne 6. 12. 2013 při teplotě vody 2,7 °C u obou skupin. Druhá biopsie se uskutečnila ve dvou dnech, a to 27. 1. 2014 za teploty 10,7 °C u ryb vystavených oteplené vodě a 28. 1. 2014 při teplotě 1 °C u skupiny na přírodní teplotě vody. Třetí bioptický odběr vzorků se vykonal 28. 2. 2014 při teplotě 4,2 °C u skupiny ryb vystavené přírodní teplotě vod a 11 °C u ryb na oteplené vodě. Poslední odběr vzorků ovocytů se realizoval 4. 4. 2014 za teploty vody u varianty na surové vodě 10,5 °C a 14 °C u druhé skupiny.

Při bioptických odběrech se každá ryba identifikovala pomocí přívěsné a mikročipové značky. Následně se jej provedla biopsie ovocytů. Odběr vzorků byl prováděn v roztoku hypermanganu dezinfikovaným trokarem. Každé jikernače se odebralo alespoň 10 kusů ovocytů. Odebrané vzorky tkáně se poté vložily do mikrozkmavek typu Eppendorf spolu se Sérovým roztokem. Všechny mikrozkmavky se označily číslem vždy tak, aby nebylo možné jednotlivé zkmavky zaměnit s jiným

vzorkem ovocytů. Místo vpichu bylo po každém zákroku ošetřeno dezinfekční betadinovou mastí (Betadine je antiseptický, desinfekční přípravek se širokým spektrem účinku proti bakteriím, virům, plísním a prvokům s léčivou látkou *povidonum iodinum* (jodovaný povidon)).

3.2.3. Vizualizace odebraných ovocytů

Fixované ovocyty se před samotným měřením propláchnuly pitnou vodou. Následně se ovocyty rozříznuly za použití žiletky v rovině podélné osy. Důležitým faktorem při určování PI bylo správné krájení ovocytů. Ovocyty se musely rozpůlit na dvě stejné poloviny se shodnou velikostí jádra v oboučástech. Pokud by úhel řezu nebyl správný nebo by chyběla část jikry, měření by bylo nepřesné.

Všechny rozpůlené ovocyty se následně přenesly do mikrodestiček, kde byl každý vzorek označen tak, aby nedošlo k záměně jednotlivých vzorků. Poté se jednotlivé řezy měřily pomocí stereomikroskopu Zeiss STEMI 2000 – C s napojením na digitální fotoaparát Olympus Camedia C 2000 ZOOM a na videomonitor. Jednotlivé ovocyty jsme pozorovali v Petriho misce pod hladinou vody s oboustranným světelným zdrojem, čímž bylo dosaženo lepší vizualizace vzorku. Před samotným focením jsme nastavili optimální boční osvětlení, které se upravilo dle obrazu snímaného fotoaparátem zobrazeného na videomonitoru. Dobře vizualizovaný a zaostřený preparát byl vyfocen a uložen na pevném disku počítače.

3.2.4. Měření ovocytů

Pro měření polohy jádra ovocytu z fotografie jsme využili program na analýzu 2D obrazu MicroImage 4.0. V režimu manuálního měření pomocí nástroje Lentgh jsme jako první změřili celkovou podélnou délku ovocytu a následně vzdálenost od okraje jádra k vnitřnímu okraji. Všechny veličiny byly měřené v pixelech a změřené hodnoty se následně exportovaly do sešitu MS Excel, ve kterém byl dle předem připraveného vzorce vypočítán PI. Vizualizace a analýza odebraných ovocytů probíhala dle metodiky Rodiny (2006).

3.2.5. Vyhodnocení výsledků

Pro lepší porovnání vlivu teploty na zralost ovocytů u jesetera malého byly jikernačky uvnitř skupin rozděleny na dvě dílčí podskupiny. Toto rozdělení se provedlo na základě četnosti PI uvnitř skupin (dle grafu č. 4 a grafu č. 5). První podskupina byla v obou variantách označena jako podskupina 1 a tvořily ji jikernačky, které při první, úvodní, biopsii vykazovaly hodnoty $\leq 12,5$ % PI. Druhá podskupina označená jako podskupina 2 se skládala vždy z ryb, které při první biopsii měly index polarizace $\geq 12,5$ %. Toto rozdělení nám umožnilo porovnávat ryby, které byly na počátku experimentu více zralé oproti rybám méně zralým. U ryb exponovaných oteplené vodě 1. podskupinu tvořilo 11 jikernaček a 2. podskupinu 20 jikernaček. Ve variantě na přírodní vodě bez ohřevu se v podskupině 1. nacházelo 24 jikernaček a v 2. podskupině 18 jikernaček.

Z každé biopsie se všechny hodnoty vložily do programu Excel, kde byly tyto hodnoty dále zpracovány. Statistické vyhodnocení dat bylo vykonané v programu Excel, za pomoci doplňku Analysis toolPak a také v programu STATISTICA 10 firmy StatSoft, Inc.

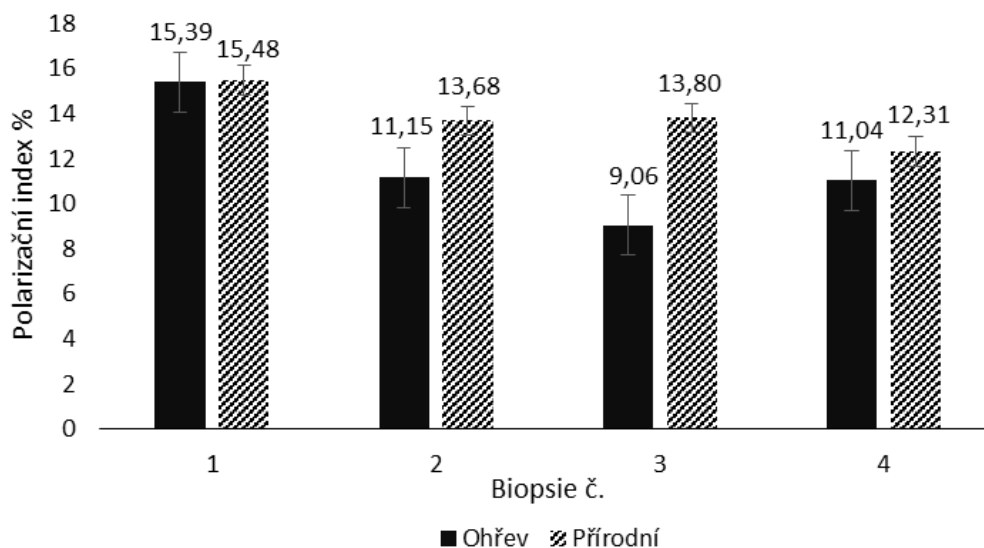
Normalitu všech dat jsme ověřili Shapiro - Wilkovým testem. Pro determinaci rozdílů mezi podskupinami a skupinami jsme použili t - test pro nezávislé vzorky. Všechny testy byly provedeny na standartní hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Data jsou prezentovaná jako průměr \pm směrodatná odchylka.

4. Výsledky

4.1. Porovnání skupin jikernaček

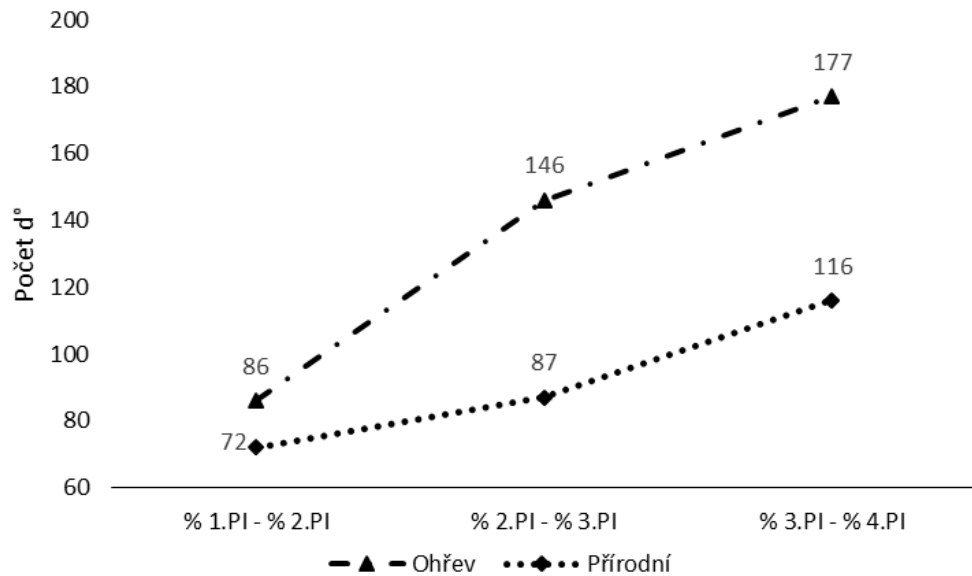
Jelikož experiment probíhal na rybách, které jsou součástí generačního hejna GRC bylo vždy nutné po provedených biopsiích odebrat zralé jikernačky ze skupiny a provést u nich umělý výtěr, tak abychom nenarušili samotný chod líhně. První dvě biopsie absolvovaly všechny jikernačky u obou skupin. Po druhé biopsii se vyřadilo k výtěru 7 zralých jikernaček z každé skupiny. Po třetí biopsii u skupiny s ohřevem došlo k odebrání 14 zralých jikernaček a u skupiny bez ohřevu se k výtěru určily 4 jikernačky. To znamená, že poslední provedené biopsie se u varianty ryb na ohřevu účastnilo 11 jikernaček z původních 31 a u druhé varianty to bylo 31 kusů z prvotních 42. Z toho vyplývá, že u skupiny na oteplené vodě v průběhu experimentu bylo k výtěrům využito 65 % jikernaček použitých na počátku experimentu, zatímco u skupiny vystavené surové vodě to bylo pouhých 26 %. Průměrný PI u všech jikernaček vyřazených k výtěru v průběhu experimentu byl na úrovni $7,2 \% \pm 1,3 \%$.

Ve výsledcích z 1. biopsie byl mezi celkovými 73 jikernačkami zaznamenán plynulý pohyb zralosti a PI se pohyboval od 7,3 % až do 34,3 % s průměrem 15,4. U skupiny ryb na ohřevu činil průměr PI první biopsie $15,4 \% \pm 6,8 \%$, ve druhé skupině byla tato hodnota na velmi podobné úrovni, a to $15,5 \% \pm 7,9 \%$. U druhé biopsie byly mezi jednotlivými skupinami již patrné rozdíly, přičemž u skupiny vystavené oteplené vodě byl průměr $11,2 \% \pm 8,1 \%$ a u varianty na surové vodě toto číslo vystoupalo na hodnotu $13,7 \% \pm 7,7 \%$. Při třetí biopsii výsledky PI u teplé varianty klesly na množství $9,1 \% \pm 4,7 \%$, zatímco u skupiny odchovávaných na přírodní teplotě vody byl tento průměr obdobný jako u předchozí biopsie, a to $13,8 \% \pm 7,7 \%$. Úroveň polarizace poslední biopsie ve skupině ryb na ohřívání vodě vzrostla na $11 \% \pm 7,4 \%$ a u druhé skupiny byla na úrovni $7,3 \% \pm 7,1 \%$. Průměrné hodnoty z jednotlivých biopsií jsou přehledně znázorněny v grafu č. 3.



Graf č. 3: Změny průměrného PI u obou skupin v průběhu celého experimentu.

Průměrný rozdíl mezi PI 1. biopsie a 2. biopsie u varianty s nahříváním činil 4,24 % při nasbírání 364 d° s potřebou 86 d° na posun o 1 %. U ryb na surové vodě činil tento rozdíl 1,87 % při počtu 134 d° a ke změně o 1 % je zapotřebí 72 d°. Mezi 2. a 3. biopsií ve skupině s nahříváním bylo nasbíráno celkem 327 d° a jádro se posunulo o 2,23 %. K pohybu o 1 % PI došlo po 146 d° u nahříváných jikernaček. U jikernaček vystavených teplotně přírodní vodě byl tento posun menší, a to 1 % při 87 d°. Rozdíl mezi PI 3. biopsie a poslední biopsií byl u varianty s ohřevem vody 1,85 % a u ryb bez ohřevu na úrovni 2,04 %. K přechodu PI o 1 % došlo u skupiny na oteplené vodě za 177 d° zatímco u druhé varianty k tomuto posunu bylo potřeba 116 d°. Jednotlivé potřeby d° pro změnu PI o 1 % mezi jednotlivými biopsiemi u obou skupin jsou znázorněny v grafu č. 4.



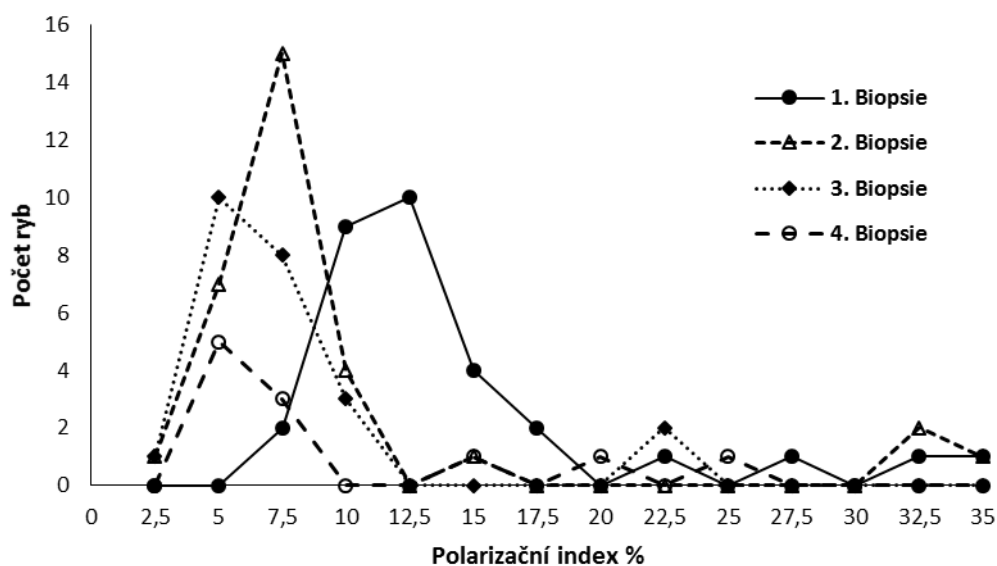
Graf č. 4: Potřeba d° k posunu jádra ovocytu o 1% mezi jednotlivými biopsiemi.

Průměrný rozdíl mezi 1. a 4. biopsií u obou skupin se rovnal $6,35 \% \pm 4,96 \%$. Nicméně pro porovnání vlivu teplot na migraci jádra u obou variant je nutné zmínit tato čísla samostatně. Průměrný rozdíl u ryb na přírodní vodě dosahoval na úroveň 5,4 % při celkovém množství 456 d° s potřebou 85 d° pro posun PI o 1 %. U druhé skupiny vystavené oteplené vodě se tento rozdíl pohyboval na úrovni 9,8 % při celkových 1097 d° s potřebou 112 d° pro migraci o 1 %. Z toho plyne, že u jikernaček vystavených oteplené vodě došlo k většímu posunu PI, než tomu bylo u ryb na surové vodě, a to o 4,4 % přičemž k této migraci bylo potřeba o 641 d° více.

Tab. č. 1: Sumární hodnoty všech provedených biopsií a % pohyb jádra mezi jednotlivými biopsiemi.

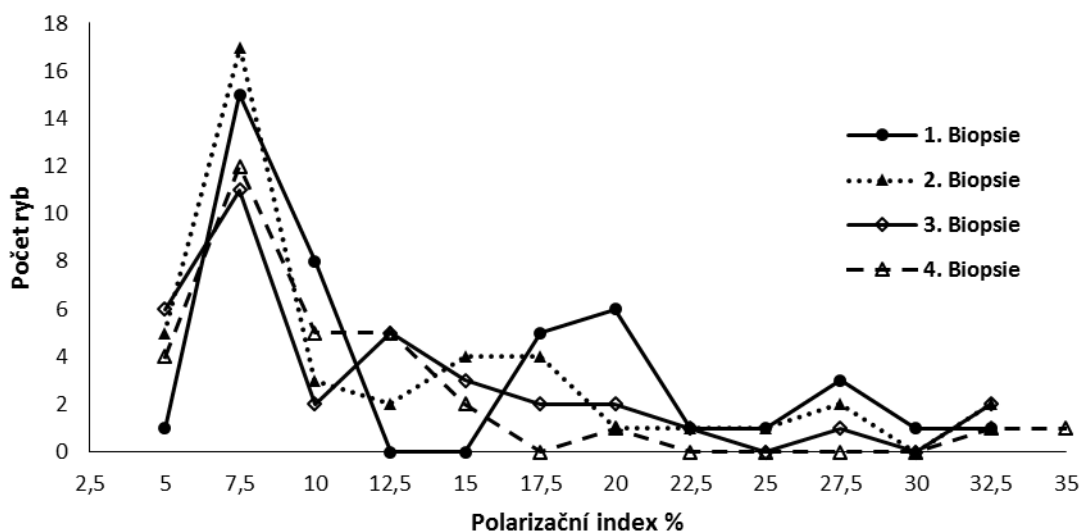
	1. Biopsie				2. Biopsie				3. Biopsie				4. Biopsie			
	Ohřev		Neohřev		Ohřev		Neohřev		Ohřev		Neohřev		Ohřev		Neohřev	
	1.PI	% 1.PI - 2.PI	1.PI	% 1.PI - 2.PI	2.PI	% 2.PI - 3.PI	2.PI	% 2.PI - 3.PI	3.PI	% 3.PI - 4.PI	3.PI	% 3.PI - 4.PI	4.PI	% 1.PI - 4.PI	4.PI	% 1.PI-4.PI
min	8	0	7,4	0	4,9	0	6,8	0	3,9	0	5,5	0	5,9	4,2	5,1	0
max	35,6	9,4	34,3	7,6	35,2	11,5	33,9	7,1	24,2	60,8	34,9	7,9	27,3	18,2	36,2	12,1
průměr	15,4	4,2	15,5	1,9	11,2	2,2	13,7	1,2	9,1	1,9	13,8	2,1	11	9,8	12,3	5,2
SD	6,8	2,84	7,9	2,1	8,1	3	7,7	1,9	4,7	2,9	7,7	2,9	7,4	4,7	7,1	4,6

Rozdělení PI u skupiny na ohřevu se pohybovala u všech biopsií na obdobné úrovni. V průběhu zkoumání nebyly pozorovány žádné ovocyty s nižším PI než 4 % a nejvyšší zaznamenaná hodnota u této skupiny činila 35,6 % PI. Největší pík v distribuci PI se zaznamenal v intervalu od 5 – 12 %. Rozložení PI u této varianty je zobrazeno v grafu č. 5.



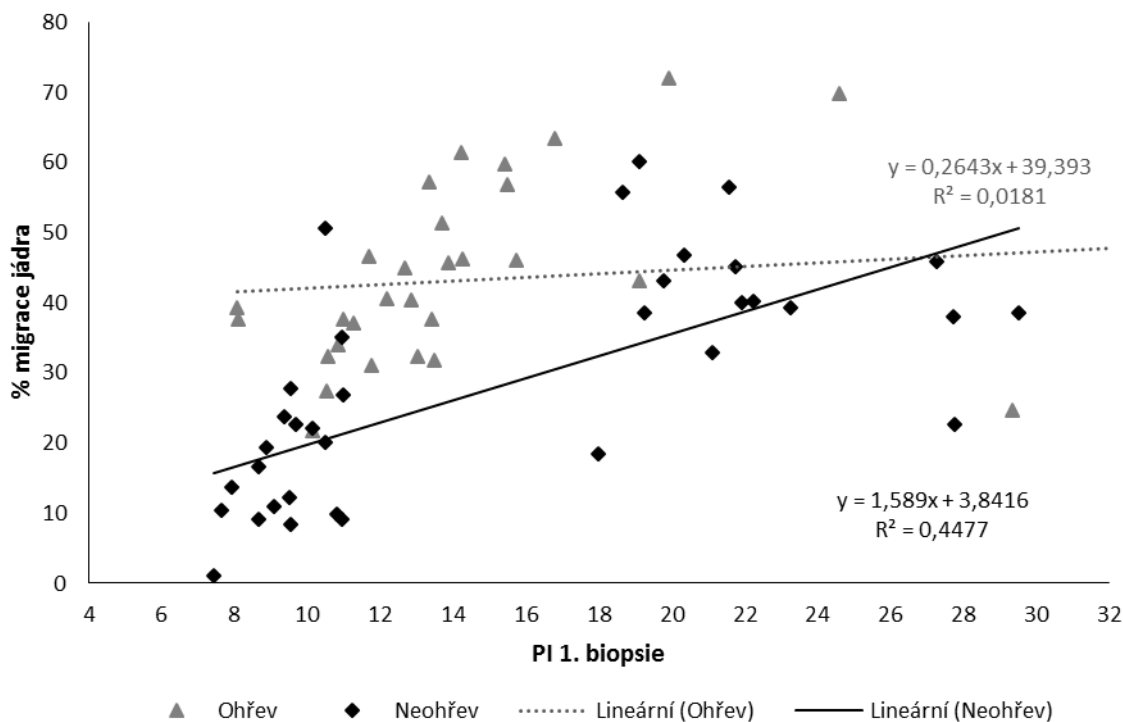
Graf č. 5: Distribuce polarizačního indexu ovocytů u varianty ryb s ohřevem vody. Interval vynesných PI na ose x je 2,5.

Ve skupině vystavené vodě o přírodní teplotě se PI také velmi podobal, obdobně jako u předchozí skupiny. V této variantě v průběhu celého experimentu nebyly nalezeny žádné ovocyty s PI menším než 5 %. Nejvyšší zjištěná hodnota PI byla u této skupiny 36,2 %. Nejvyššího pík byl opětovně zaregistrován mezi hodnotami 5 – 12 % stejně jako tomu bylo u předchozí skupiny. Distribuce jednotlivých PI je opět přehledně zobrazena v grafu č. 6.



Graf č. 6: Distribuce indexu polarizace u ovocytů u skupiny ryb na surové vodě. Interval vynesných PI na ose x je 2.

V grafu č. 7 je znázorněna souvislost mezi PI 1. biopsie a procentuálním pohybem jádra ovocytu do poslední provedené biopsie u obou experimentálních skupin. Na tomto grafu je možné pozorovat, že jádro se rychleji pohybovalo u ryb, které do experimentu vstupovaly s vyšším indexem polarizace. Také je patrné, že u nahříváných jikernaček došlo k vyššímu posunu jádra v průběhu experimentu. Průměrné % pohybu jádra ovocytu se v průběhu celého experimentu u varianty jikernaček s ohřevem pohybovalo na úrovni 43 %, zatímco u druhé skupiny jikernaček, které byly exponovány pouze teplotně neupravované vodě, tato průměrná hodnota činila pouze 28 %. Celkový efekt různého teplotního režimu na změnu PI nebyl statisticky signifikantní ($p = 0,0704$, $t = - 1,816$, $sv = 246$).



Graf č. 7: Procentuální migrace jádra mezi 1. biopsií a poslední biopsií

4.2. Výsledky podskupin

U 1. podskupiny varianty ryb s ohřevem vody se v průběhu celého experimentu vyřadilo k výtěru 100 % jikernaček. U 1. podskupiny ve skupině ryb vystavené přírodní vodě bylo určeno k výtěru pouze 48 % jikernaček za dobu celého pokusu. U 2. podskupiny u varianty ryb na ohříváné vodě se k výtěru určilo 45 % jikernaček, zatímco u ryb umístěných na surové vodě byla k výtěru připuštěna pouze jedna jikernačka, což odpovídá hodnotě 5 %.

Průměrný PI při 1. biopsii u 1. podskupiny ve variantě s ohřevem činil $10,6 \% \pm 1,4 \%$, u varianty exponované surové vodě tento průměr byl na úrovni $9,4 \% \pm 1,1 \%$. Při druhé biopsii se tato hodnota snížila u skupiny na ohřevu na $7,3 \% \pm 1,4 \%$ a u skupiny druhé na $8,3 \% \pm 1,1 \%$. Ve třetí biopsii došlo k dalšímu poklesu na $7,1 \% \pm 0,7 \%$ ve skupině ryb vystavených oteplené vodě a ve skupině jikernaček na přírodní vodě na $8,0 \% \pm 1,2 \%$. Poslední biopsie se již na jikernačkách

z teplé varianty neprováděla, jelikož všechny jikernačky z této skupiny byly určeny k umělé reprodukci. Ve skupině odchovávaných na přírodní vodě průměrný činil PI $8,2 \% \pm 1,3 \%$. Všechny naměřené hodnoty u 1. podskupiny obou variant jsou shrnuty v Tab. č. 2.

Tab. č. 2: Přehled všech hodnot PI u 1. podskupiny u obou experimentálních variant.

	Ohřev				Přírodní			
	1. PI	2. PI	3. PI	4. PI	1. PI	2. PI	3. PI	4. PI
Min	8,1	4,9	6,3	-	7,4	7,1	5,4	5,2
Max	12,2	9,3	8,1	-	11	11	9,8	10,1
Průměr	10,6	7,3	7,1	-	9,4	8,3	8,0	8,2
SD	1,4	1,4	0,7	-	1,1	1,1	1,2	1,3

U 2. podskupiny se průměrné hodnoty PI ovocytů ve skupině ryb na ohřevu pohybovaly na úrovni $18,1 \% \pm 7,2 \%$ a u skupiny ryb vystavené na surové vodě $23,6 \% \pm 4,9 \%$. Při druhé biopsii došlo k poklesu PI u obou skupin. U ryb vystavených ohřívání vodě to bylo na hodnotu $13,3 \% \pm 9,5 \%$ a u jikernaček na přírodní teplotě vody na úroveň $20,8 \% \pm 6,8 \%$. PI ovocytů u 3. biopsie se snížil u teplé varianty na $10,6 \% \pm 6,7 \%$ a u studené varianty na $19,3 \% \pm 7,1 \%$. U poslední biopsie průměrný PI ve skupině vytavené oteplené vodě činil $11 \% \pm 7,4 \%$ a ve skupině s tepelně neupravovanou vodou $15,7 \% \pm 8,1 \%$. Souhrnné hodnoty 2. podskupiny z obou skupin jsou uvedené v tab. č. 3. Přehledné grafické znázornění průměrných hodnot všech podskupin je umístěné v příloze.

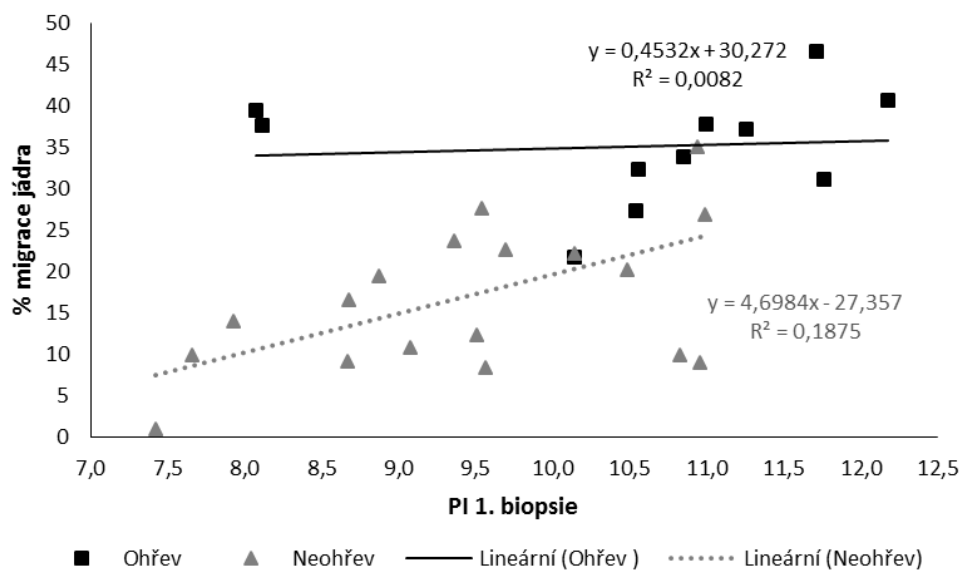
Tab. č. 3: Souhrnné hodnoty PI u 2. podskupiny u obou pokusných variant.

	Ohřev				Přírodní			
	1. PI	2. PI	3. PI	4. PI	1. PI	2. PI	3. PI	4. PI
Min	12,7	6,2	4	5,6	18	13,9	12,1	7,6
Max	35,7	35,2	29,1	24,4	34,3	33,9	34,9	36,2
Průměr	18,1	13,3	10,6	11	23,6	20,8	19,3	15,7
SD	7,2	9,5	6,7	7,4	4,9	6,8	7,1	8,1

Průměrný rozdíl PI mezi jednotlivými biopsiemi u 1. podskupin byl následující: Mezi 1. a 2. biopsií u ryb s nahříváním tento rozdíl činil 3,2 % při nabírání 364 d°, s potřebou 114 d° k posunu o 1%. U jikernaček na surové vodě to bylo 1% při 134 d°. Mezi biopsiemi 2 a 3 v teplé skupině došlo ke změně PI o 0,9 % za 327d°, přičemž k migraci o 1 % by bylo zapotřebí 359 d°, u varianty na přírodní vodě se zaznamenal pohyb o 0,45 % při 87,4 d°, k pohybu o 1 % by se vyžadovalo 194 d°. Mezi 3. a poslední biopsií se již v nahřívané variantě neprováděla biopsie, z důvodu vyřazení ryb k výtěru. U druhé skupiny nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi PI 3. a 4. biopsie. Celkový průměrný rozdíl mezi 1. a poslední provedenou biopsií (tzn. 3. biopsií) u skupiny ryb exponované oteplené vodě stanul na 4,5 % při celkových 692 d°, a tudíž k posunu o 1 % bylo vyžadováno 153 d°. U jikernaček na přírodní teplotě vody tato celková hodnota činila 1,9 % při nasbírání 455 d° z čehož vyplývá, že k pohybu o 1 % je zapotřebí 239 d°.

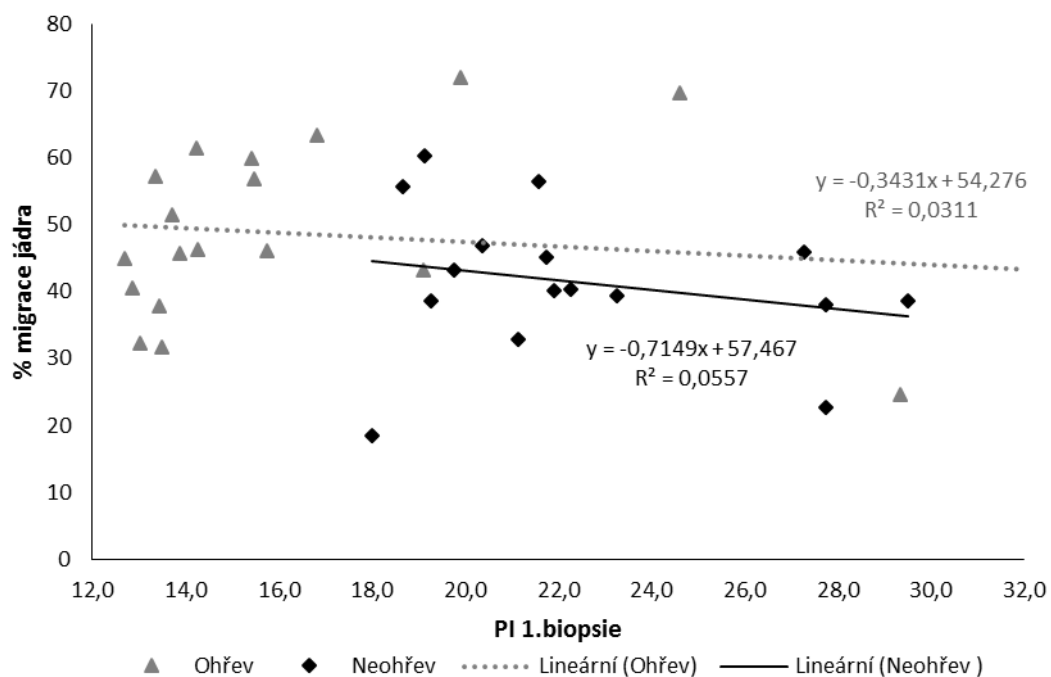
U 2. podskupin se průměrný rozdíl mezi biopsiemi měnil následovně: Mezi 1. a 2. biopsií u skupiny ryb na oteplené vodě došlo k posunu o 4,8 % při 364 d° s nutností 75 d° pro migraci o 1 %. U druhé varianty se PI změnil o 2,8 % při nasbírání 134 d°, přičemž k pohybu o 1 % se vyžadovalo 47,8 d°. V průběhu 2. a 3. biopsie se PI změnil o 2,7 % za 327 d° u ohřívání skupiny s potřebou 121 d° k posunutí o 1 %. U druhé skupiny to byla změna o 1,5 % za 87 d°, s nutností 58 d° k přechodu o 1 %. V intervalu 3. a 4. biopsie došlo k pohybu u skupiny ryb vystavené oteplené vodě o 1,8 % za 405 d°, k migraci o 1 % bylo tedy zapotřebí 225 d°. U přírodní varianty došlo k posunu o 3,8 % při 238 d°, tudíž k 1 % se vyžadovalo 63 d°. Celkový průměrný rozdíl mezi 1. a 4. biopsií u ryb vystavených v ohřívání vodě 9,7 % při celkových 1096 d°, z toho vyplývá, že ke změně o 1 % došlo za 113 d°. U jikernaček na surové vodě celkový rozdíl stanul na 8,2 % při celkových 455 d°. K posunu o 1 % došlo po 55 d°.

V grafu č. 8 je znázorněna souvislost mezi PI 1. biopsie a procentuálním pohybem jádra ovocytu do poslední provedené biopsie u 1. podskupin obou variant. Z grafu je patrné, že jikernačky z ohřívání skupiny měly v průběhu experimentu vyšší % pohybu jádra ovocytu oproti jikernačkám vystavených teplotně neupravované vodě. Průměrná hodnota % migrace jádra u 1. podskupiny nahřívání varianty činila 35 %. U skupiny na surové vodě byl tento průměr téměř o polovinu menší, a to 17 %.



Graf č. 8: Procentuální migrace jádra mezi 1. biopsií a poslední biopsií u 1. podskupin.

V grafu č. 9 je vyobrazena souvislost mezi indexy polarizace 1. biopsie a procentuálním pohybem jádra ovocytu do poslední provedené biopsie u 2. podskupin v rámci obou variant. Oproti předchozímu srovnání 1. podskupin, ve kterém byl patrný vysoký rozdíl mezi jednotlivými variantami ve prospěch ryb umístěných na oteplené vodě, v tomto porovnání nebyl pozorován tak významný rozdíl jednotlivými podskupinami. Průměrná hodnota % migrace jádra u 2. podskupiny nahřívané varianty činila 48 %. U skupiny na surové vodě se tento průměr pohyboval na úrovni 41 %. Migrace jádra ovocytů je podstatně vyšší u jikernaček s větším PI na počátku experimentu (tj. 2. podskupina) ve srovnání s jikernačkami, které do experimentu vstupovaly s nižším PI (1. podskupina). Jádro se patrně přesouvá k animálnímu pólu co nejrychleji, tak aby ovocyt byl oplozeníšopný v termínu výtěru.



Graf č. 9: Procentuální migrace jádra mezi 1. biopsií a poslední biopsií u 2. podskupin.

Při statistickém porovnání PI nebyl pozorován žádný signifikantní rozdíl mezi 1. podskupinami ($p = 0,937$, $sv = 32,94$, $t = 0,079$). Zatímco při srovnání 2. podskupin jikernaček byl pozorován signifikantní rozdíl mezi 2. podskupinami ($p = 0,000002$, $sv = 140$, $t = -4,93$).

5. Diskuse

U ryb jakožto exotermických organismů ovlivňuje teplota vody rychlost bazálního metabolismu, jehož přímým následkem je i rozdílná rychlost zrání, ovulace a rychlost reakce na hormonální změny (Harvey a Hoar, 1979). Právě teplota je jedním z klíčových faktorů, které ovlivňují, kdy a pokud vůbec dojde k ovulaci a každý rybí druh má svůj specifický rozsah teplot, který je pro dosažení ovulace nejvhodnější (Horváth, 1978). Jeseteři mohou žít v širokém rozpětí teplot vody od 1 až do 26 °C (Williot, 2002) a navzdory široké rozmanitosti habitatů, je jejich reprodukce většinou omezena na sladkovodní ekosystémy a teplotní rozmezí 11 – 16 °C (Ruban, 2005). Optimální teplota pro masivní výtěr jesetera malého je v přírodních podmínkách 13,5 – 17 °C, přičemž maximální teplota, při které byl pozorován přirozený výtěr je 20,7 °C a minimální je 9,4 °C (Shmidtov, 1939). Mechanismus účinku teploty vody na chrupavčité není doposud přesně znám. Nicméně je prokázáno, že nepříznivé teploty odchovného prostředí mohou u jikernaček negativně ovlivňovat progesteronové receptory a vývoj ovocytů, přičemž může docházet k pozastavení migrace jádra a zrání ovocytu (Goncharov a kol., 2009).

Většina hypotéz poukazuje na to, že ke správnému vývoji ovocytů je nutné přirozené kolísání teploty vody. Tyto domněnky byly potvrzeny například u jesetera ruského (Kazanskii, 1963), jesetera hvězdnatého (Dettlaff a Davydova, 1979) a jesetera sibiřského (Williot a kol., 1991). Teplota odchovného prostředí v předvýtěrovém období by neměla být vyšší, než je optimální výtěrová teplota daného druhu, a to z toho důvodu, že již krátkodobé zvýšení teploty nad tyto hodnoty má za následek desynchronizaci zrání ovocytů a nízkou kvalitu pohlavních produktů (Chebanov a Galich, 2011). Oproti tomu expozice nízkým teplotám je nutná pro získání kvalitních gamet, nicméně amplituda a minimální délka trvání není doposud přesně známa (Williot a kol., 1991).

Byl také prokázán vliv teploty na syntézu hormonů, sekreci a metabolismus u jeseterovitých ryb (Van Der Kraak a Pankhurst, 1996). U jikernaček, držných v nepříznivých teplotních podmínkách, dochází ke snížení schopnosti folikulárních vrstev reagovat na gonadotropní hormony (Dettlaff a Davydova, 1979). Teplotní efekt na dozrávání folikulů a ovariální regresi je v konečném důsledku kontrolován mozkiem, a to

konkrétně hypofýzou (Williot a kol., 1991), což bylo také potvrzeno i ve studii prováděné na pstruhu duhovém (*Oncorhynchus mykiss*) (Janz a Van Der Kraak, 1997).

K odběrům vzorků ovocytu v průběhu našeho experimentu byla použita metoda biopsie. Tato metoda je v akvakultuře jeseterovitých široce rozšířená a používaná. Většina odborníků doporučuje k determinaci zralosti ovocytu využití právě této metody (Gela a kol., 2008; Goncharov a kol., 2009; Chebanova a Galich, 2011). Chapman a Park (2005) dokonce tvrdí, že biotický odběr ovocytů je nejrychlejší, nejsnazší a nejspolehlivější metodou k určení zralosti a připravenosti jikernaček k výtěru, který je možný v současné době využít na rybích líhních při odchovu jeseterovitých ryb.

Náš experiment započal při 2,7 °C, přičemž u skupiny ryb na oteplené vodě se teploty pohybovaly v rozmezí 1,4 – 14,5 °C a u varianty na přírodní vodě v intervalu 0,6 – 10,5 °C. Webb a kol. (1999) zkoumali vliv konstantní teploty na vývoj ovárií u jesetera bílého. Jikernačky tohoto druhu byly vystavené konstantním teplotám 15 °C a 18 °C po dobu 6 – ti měsíců. Při obou variantách dospěli k závěru, že konstantní teplota vody negativně ovlivňuje zrání a ovulaci jeseterovitých ryb a také zvyšuje výskyt života - neschopných jiker u ovulujících jikernaček. U jikernaček vystavených přírodní teplotě vody, nebyly tyto problémy pozorovány. Velmi obdobné výsledky byly popsány také u ovocytů obojživelníků (*Amphibia*) (Dumont, 1972).

U jesetera bílého chovaného v celoročně oteplené vodě je nutné snížení teploty pod 15°C v období pozdní fáze vitelogeneze. Tato teplotní manipulace byla úspěšně provedena u jeseterů bílých odlovených z divokých populací (Kazanskii a Molodtsov, 1973; Chebanov, 1996). Za účelem zlepšení ovulace, zvýšení kvality pohlavních produktů a k minimalizaci ovariální regrese, se na základě těchto studií mnoho chovatelů (zejména v Kalifornii) rozhodlo přistoupit k chlazení vody nebo využít chladných přírodních zdrojů vody. Kromě toho, držení jeseterů bílých ve venkovních nádržích vystavených ochlazované vodě prodloužilo běžné jarní výtěry po celé léto a počátek podzimního období, což znamená, že teplotní režim může potlačit, alespoň částečně, vliv fotoperiody na kontrolu zrání ovocytů (Webb a kol., 2001). Webb a kol., (2001) exponovali jikernačky jeseterů bílých teplotě vody v rozmezí 10 – 19 °C v období října

až března, přičemž v měsíci lednu zvýšili teplotu na hodnotu, při které se běžně jeseter bílý vytírá. Toto zvýšení bylo přibližně o 2 – 3 měsíce dříve, než je běžné v místech jeho přirozeného výskytu. Tento pokus vyústil k vysokému výskytu (až 50 %) ovariální regrese v průběhu pozdní fáze vitelogeneze. Podobné regrese byly pozorovány i u jesetera malého (Faleeva, 1965).

Žádná z jikernaček, která měla při prvním odběru vzorků $PI > 18 \%$ nebyla následně určena k výtěrům. To potvrzuje i Chebanov a Galich (2011), kteří se shodují na tom, že ryby v předvýtěrovém období s $PI > 18 \%$ jsou nezralé a doporučují je zařadit k výtěrům v další sezoně. U první podskupiny ohřívané varianty se k výtěrům určilo 100 % jikernaček, u podskupiny na přírodní vodě se k umělé reprodukci vyřadilo 48 % experimentálních ryb. Chebanov a Galich (2011) také tvrdí, že u jikernaček s $PI \leq 12 \%$ již není nutné provádět další biopsie. Přičemž ryby, které mají PI v rozmezí 10 - 12 % doporučují vystavit výtěrové teplotě po dobu 2 – 4 dní a následně u nich použít hormonální stimulaci ovulace.

U jikernaček určených k výtěrům se PI pohyboval na úrovni 7,2 %. To potvrzuje i Dettlaff a kol. (1993), který doporučuje využít k výtěrům jikernačky, jež dosahují u ovocytů PI 7 % a méně. Stejného názoru je i Chapman a Van Eenennaam (2007), kteří si myslí, že k výběru jikernaček k umělé reprodukci jsou nejvhodnější ryby, jež mají PI menší než 10 %, ale ještě více vyhovujícími se mu jevíly jikernačky, které vykazovaly PI v intervalu 6 – 8 %.

Z celkového zhodnocení výsledků vyplynulo, že zvýšená teplota neměla statisticky významný vliv na změnu rychlosti zrání ovocytů u jikernaček jesetera malého. K velmi podobným závěrům u svého experimentu došli i Goncharov a kol. (2009), kteří pokus prováděli taktéž na jeseteru malém, kterého exponovali po dobu 16 dní teplotám v rozmezí 6 – 13 °C. Z jejich výsledků dospěli k názoru, že ačkoliv pozorovali nižší PI a vyšší obsah progesteronu u skupiny jikernaček na oteplené vodě oproti kontrolní skupině na přírodní teplotě vody, výsledky nebyly statisticky významné.

6. Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřena na zjištění vlivu teploty odchovného prostředí na jikernačky jesetera malého v předvýtěrovém období. Studiím o vlivu teploty na dozrávání ovocytů u jeseterovitých ryb není doposud věnována taková míra pozornosti, kterou by si tato oblast zasloužila. Proto naší snahou bylo tento faktor analyzovat a snažit se najít jeho pozitivní a negativní vliv na dozrávání ovocytů u tohoto druhu.

V první části diplomové práce byla pozornost věnována charakteristice jeseterovitých se zaměřením na jesetera malého. V praktické části práce jsou podrobně analyzována konkrétní data, která jsme získali v průběhu několika biopsií. Výsledky této diplomové práce by měly napomoci k rozšíření a lepšímu poznání teploty, jako základního faktoru působícího na zrání a ovulaci jeseterovitých ryb, konkrétně u jesetera malého.

Z dosažených výsledků vyplývá, že zvýšená teplota odchovného prostředí v průběhu předvýtěrového období neměla statisticky významný vliv na zralost ovocytů u jikernaček jesetera malého i přesto, že u skupiny ryb v ohřívané vodě byly pozorovány nižší hodnoty polarizačního indexu a vyšší % migrace jádra. Experimentálně byl ovšem potvrzen signifikantní efekt teploty na dozrávání méně zralých jikernaček.

Na závěr lze konstatovat, že metodu nahřívání jikernaček jesetera malého v průběhu předvýtěrového období lze využít k urychlení dozrávání zejména u méně zralých jikernaček a k synchronizaci jejich výtěru.

7. Seznam použité literatury

- Aizenshtadt, T. B., Dettlaff, T. A., 1972. Ultrastructure of stellate sturgeon oocytes during maturation 1 Anuulate lamele and Golgi complex. *Sov. J. Dev. Biol.* 3: 220 - 229.
- Akhundov, M. M., 1988. Early gametogenesis and gonadogenesis in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstadti*). *Brandt. Izvest. Akad. Nauk Azerbaid Ser. Biol. Nauk* 2: 76 – 81.
- Akhundov, M. M., 1997. The plasticity of gonadal sex differentiation of sturgeon. Baku. Elm. 200 s.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995. Fauna ČR a SR. Mihulovci – *Petromyzontes* a ryby – *Osteichthyes*, 1, 624.
- Bemis, W. E., Kynard, B., 1997. Sturgeon rivers: an introduction to acipenseriform biogeography and life history. *Environmental Biology of Fishes*, 48(1 - 4), 167 - 183.
- Birstein, V. J., Bemis, W. E., Waldman J. R., 1997. The threatened status of Acipenseriform species: a summary. *Environ. Biol. Fish.* 48: 427 - 435
- Bloesch, J., Jones, T., Reinartz, R., Striebel, B., 2006. An action plan for the conservation of sturgeons (acipenseridae) in the Danube River Basin. *Österreichische Wasser-und Abfallwirtschaft*, 58(5 - 6), 81 - 88.
- Bronzi P., Rosenthal H., Gessner J., 2011. Global sturgeon aquaculture production: an overview. *J. Appl. Ichthyol*, 27: 169 - 175.
- Bronzi, P., Rosenthal, H., Arlati, G., Williot, P., 1999. A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. *Journal of Applied Ichthyology*, 15. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin. S. 224 - 227.
- Bruch, R. M., Dick, T. A., Choudhury, A., 2001. A practical field guide for the identification of stages of lake sturgeon gonad development with notes on lake sturgeon reproductive biology and management implications. *Publ. Sturgeon for Tomorrow*, Malone, WI.
- Coppens International, 2007. *Manual on Sturgeon Reproduction*, Helmond, Netherlands, 40 s.
- Debus, L., Winkler, M., Billard, R., 2008. Ultrastructure of the oocyte envelopes of some Eurasian acipenserids. *J. Appl. Ichthyol.* 24: 57 – 64.

- Dettlaff, T. A., Davydova, S. I., 1979. Differential sensitivity of cells of follicular epithelium and oocytes in the stellate sturgeon to unfavorable conditions, and correlating influence of triiodothyronine. *Gen. Comp. Endocrinol.* 39, 236 – 243.
- Dettlaff, T. A., Ginsburg, A. S., Schmalhausen, O. I., 1993. *Sturgeon Fishes. Developmental Biology and Aquaculture.* Springer-Verlag, Berlin. 300 s.
- Dumont, J. N., 1972. Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). I. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals. *Journal of Morphology*, 136(2), 153 - 179.
- Ermolin, V. P., 1977. Feeding of common bream, sterlet, white bream and roach in Saratov Reservoir–Tr. Saratov. *Otd. GosNIORKh*, 15, 75 - 78.
- Esmaeili, H. R., Johal, M. S., 2005. Ultrastructural features of the egg envelope of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), (Osteichthyes, Cyprinidae). *Environ. Biol. Fishes* 72: 373–377.
- Faleeva, T. A., 1965. Analysis of atresia of the fish oocytes with reference to the adaptive importance of this phenomenon. *Vopr. Ikhtiol.* 5, 455 – 470.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015. *Acipenser ruthenus*. FAO Fisheries and Aquaculture department. Dostupné na: <http://www.fao.org/fishery/species/2070/en> [22. 11. 2015, 18:04]
- Feist, J. P., Van Eenennaam, S. I., Doroshov, C. B., Schreck, R. P., Schneider, M. S., 2004. Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, using plasma steroid levels, *Aquaculture* 232, 581 – 590.
- Gela, D., Kahanec, M., Rodina, M., 2012. Metodika odchovu raných stádií jeseterovitých ryb. Edice metodik, č. 126. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích a Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech. 45 s.
- Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (*Acipenser*). VÚRH JU, Vodňany, č. 78, 24 s.
- Ginsburg, A.S., 1987. Egg cortical reaction during fertilization and its role in block to polyspermy. *Sov. Sci. Rev. F. Physiol. Gen. Biol.* 1: 307- 375.

- Goncharov, B. F., Skoblina, M. N., Trubnikova, O. B., Chebanov, M. S., 2009. Influence of temperature on the sterlet (*Acipenser ruthenus*) ovarian follicles state. In *Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons*, Springer Netherlands. 205 - 214.
- Greze, V. N., 1957. Food resources for fish in the Yenisei river and their utilization. *Izvestiya VNIOHR*, 41, 264 - 280.
- Guti, G., Gaebele, T., 2009. Long-term changes of sterlet (*Acipenser ruthenus*) population in the Hungarian section of the Danube. *Opusc. Zool. Budapest*, 40(2), 17 - 25.
- Harvey, B. J., Hoar, W. S., 1979: The theory and practice of induced breeding in fish. *International Development Research Center*, 48.
- Hilton - Taylor, C., 2000. 2000 IUCN red list of threatened species. IUCN..
- Hochleithner, M., 2004. Störe – Biologie und Aquakultur. AquaTech, Publications, 9 – 222.
- Holčík, J., Klindová, A., Masár, J., Mészáros, J., 2006. Sturgeons in the Slovakian rivers of the Danube River basin: an overview of their current status and proposal for their conservation and restoration. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(s1), 17 - 22.
- Horváth, L., 1978. Relation between ovulation and water temperature by farmed cyprinids. *Aquacultura Hungarica*, 1, 58 – 65.
- Chapman FA, Park C., 2005. Comparison of sutures used for wound closure in sturgeon following a gonad biopsy. *North American Journal of Aquaculture* 67:98 - 101.
- Chapman, F. A., Van Eenennaam, J. P., 2007. Sturgeon aquaculture-specialized techniques: determining the stage of sexual maturity in female sturgeon for artificial spawning: the egg polarization index or PI. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Chebanov, M. S., 1996. Ecological basis of optimization in sturgeon reproduction. *Rybovodstvo i Rybolovstvo*, 2, 9 - 12.
- Chebanov, M. S., Galich, E. V., 2009. Ultrasound diagnostics for sturgeon broodstock management. FSGTSR, Krasnodar. Izdatelstvo Prosveshenie-Yug.

- Chebanov, M. S., Galich, E. V., 2011. Sturgeon hatchery manual. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 338.
- Cherr, G. N., Clark, W. H., 1982. Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. *Development, Growth & Differentiation*, 24(4), 341 - 352.
- Cherr, G. N., Clark, W. H., 1984. Jelly release in the eggs of the white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) an enzymatically mediated event. *J. Exp. Zool.* 230: 145 – 149.
- Janz, D. M., Van Der Kraak, G., 1997. Suppression of apoptosis by gonadotropin, 17 β - estradiol, and epidermal growth factor in rainbow trout preovulatory ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 105, 186 – 193.
- Kalmykov, V. A., Ruban, G. I., Pavlov, D. S., 2010. Migrations and resources of sterlet *Acipenser ruthenus* (*Acipenseridae*) from the lower reaches of the Volga River. *Journal of Ichthyology*, 50(1), 44 - 51.
- Kazanskii, B. N., 1963. Obtaining of different season progeny of fishes for repeated culture cycles sturgeons as an example. In: Pavlovskii, S. N. _Ed., *Sturgeon Culture in Water Bodies of the USSR*. Izdatelstvo Akad Nauk SSSR, Moscow, pp. 56 – 64.
- Kazanskii, B. N., Molodtsov, A. N., 1973. Methods of handling sturgeon spawners in production lines with regulated water temperature. *Tr. VNIRO* 92, 21 – 33.
- Koščo, J., Košuthová, L., Košuth, P., Pekárik, L., 2010. Non - native fish species in Slovak waters: origins and present status. *Biologia*, 65(6), 1057 - 1063.
- Kozłowski, M., Szczepkowski, M., Wunderlich, K., Szczepkowska, B., Piotrowska, I., 2014. Polyculture of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) and sterlet (*Acipenser ruthenus* L.)) in a recirculating system. *Arch. Pol. Fish.*, 22. S. 237 – 242.
- Kudo, S., 1982. Ultrastructure of a sperm entry site beneath the micropylar canal in fish eggs. *Zoological Magazine* 91: 213 – 220.
- Le Menn, F., Pelissero, C., 1991. Histological and ultrastructural studies of the Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). In: *Acipenser* (Williot, P., ed.), Cemagref, Bordeaux, pp. 113 – 128.

- Lelek, A., 1987. The freshwater fishes of Europe, Vol. 9. Threatened Fishes of Europe. Aula-Verlag, Wiesbaden.
- Lescheid, D. W., Powell, J. F. F., Fischer, W. H., Park, M., Craig, A., Bukovskaya, O., Barannikova, I. A., Sherwood N. M., 1995, Mammalian gonadotropin-releasing hormone (GnRH) identified by primary structure in Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedti*, Regul. Pept. 55, 299 – 309.
- Linares-Casenave, J., Van Eenennaam J. P., Doroshov, S. I., 2002. Ultrastructural and histological observations on temperature-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon, J. Appl. Ichthyol. 18: 382 – 390.
- Nelson, J. S., 2006. Fishes of the World. John Wiley & Sons.
- Owsjannikow, P., 1871. Ueber einen neuen Parasiten in den Eiern des Sterlets. Melanges Biologiques Titles du Bulletin de l'Academie des Sciences de Saint-Petersbourg, 8, 334 - 338
- Paragamian, V. L., Wakkinen, V. D., 2002. Temporal distribution of Kootenai River white sturgeon spawning events and the effect of flow and temperature, J. Appl. Ichthyol. 18, 542 – 549.
- Pavlick, R. J. Jr., Moberg, G. P., 1997. Dopaminergic influence on gonadotropin secretion in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), Fish. Physiol. Biochem. 16, 35 – 43.
- Pikitch, E. K., Doukakis, P., Lauck, L., Chakrabarty, P., Erickson, D. L., 2005. Status, trends and management of sturgeon and paddlefish fisheries. Fish and Fisheries, 6(3), 233 -265.
- Piñuela, C., Northcutt, R. G., 2007. Immunohistochemical organization of the forebrain in the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, Brain Behav. Evol.69, 229 – 253.
- Podushka, S. B., 1993. The variability of the number of micropyles in the eggs of Volga Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*). J. Ichthyol. 33: 152 – 155.
- Pšenička, M., Rodina, M., Linhart, O., 2010. Ultrastructural study on the fertilisation process in sturgeon (*Acipenser*) function of acrosome and prevention of polyspermy. Anim. Reprod. Sci. 117: 147 – 154.

- Rodina, M. 2007. Využití analýzy obrazu při určování polohy jádra v ovocytech jeseterovitých ryb. VÚRH Vodňany, 43, 13.
- Ruban, G. I., 2005. The Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt: species structure and ecology.
- Rybníkář, J., Mareš, J., 2013. The effect of different prespawn holding temperatures on the degree of sterlet (*Acipenser ruthenus*) broodstock females oocyte ripeness.
- Safronov, A. S., Solokhin, I. V., Nikolaev, A. I., Burlatchenko I. V., Filippova, O. P., Dudin, K. V., 2006. Use of a borescope for early intravital identification in sturgeons. Sturgeon Aquaculture: Achievements and Prospects for Development. Astrakhan. 121 – 124.
- Semenkova, T. B., Canário, A. V., Bayunova, L. V., Couto, E., Kolmakov, N. N., Barannikova, I. A., 2006. Sex steroids and oocyte maturation in the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). Journal of Applied Ichthyology, 22 (s1), 340 - 345.
- Shmidtov, A. I., 1939. Sterlet (*Acipenser ruthenus*). Uch. Zap. Kazansk. Gos. Un-ta, 99, 4 - 50.
- Siddique, M. A. M., Pšenicka, M., Cosson, J., Dzyuba, B., Rodina, M., Golpour, A., Linhart, O., 2014. Egg stickiness in artificial reproduction of sturgeon: an overview. Reviews in Aquaculture.
- Sion, C., Calin, P. G., Oprea, L., Nica, A., Bacanu, G. M., 2011. The influence of pellets quality on the growth of sterlet, in recirculating aquaculture system. AACL Bioflux 4 (2). S. 130 - 136.
- Spurný, P., 1998. Ichthyologie (systematická část). MZLU v Brně, 138 s.
- Stejskal, V., Matoušek, J., Kouřil, J., 2013. Možnosti chovu jiných než lososovitých druhů ryb v recirkulačních systémech využívajících dánskou technologii. Sborník příspěvků Zkušenosti s chovem ryb v recirkulačním systému dánského typu. Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, MENDELU. S. 85 - 95.
- Van Der Kraak, G., Pankhurst, N. W., 1996. Temperature effects on reproductive performance of fish. In: Wood, C. M., McDonald, D. G. (Eds), Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish. Cambridge Univ. Press, New York, pp. 159 - 176.

- Van Eenennaam, J. P., Doroshov, S. I., 1998. Effects of age and body size on gonadal development of Atlantic sturgeon. *J. Fish Biol.* 83: 624 – 637.
- Webb, M. A. H., Doroshov, S. I., 2011. Importance of environmental endocrinology in fisheries management and aquaculture of sturgeons. *General and Comparative Endocrinology*, 170.2: 313 - 321.
- Webb, M. A., Van Eenennaam, J. P., Feist, G. W., Linares-Casenave, J., Fitzpatrick, M. S., Schreck, C. B., Doroshov, S. I., 2001. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*, 201(1), 137 - 151.
- Webb, M.A.H., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Moberg, G.P., 1999. Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproductive performance of female white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. *Aquaculture* 176, 315 – 329.
- Williot, P. R., Brun, T., Rouault, T., Rooryck, O., 1991. Management of female spawners of the Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt: first results. In: Williot, P. _Ed., *Acipenser Actes du Premier Colloque International sur L'esturgeon*. Bordeaux, CEMAGREF, pp. 365 – 380.
- Williot, P., 2002. Reproduction des esturgeons. *Esturgeons et caviar*. Lavoisier Tech et Doc, Paris, 63 - 90.
- Williot, P., Arlati, G., Chebanov, M., Gulyas, T., Kasimov, R., Kirschbaum, F., Kim, Y., 2002. Status and management of Eurasian sturgeon: an overview. *International Review of Hydrobiology*, 87(5), 483 - 506.
- Williot, P., Sabeau, L., Gessner, J., Arlati, G., Bronzi, P., Gulyas, T., Berni, P., 2001. Sturgeon farming in Western Europe: recent developments and perspectives. *Aquatic Living Resources*, 14(06), 367 - 374.
- Wuertz, S., Gröper, B., Gessner, J., Krüger, T., Luckas, B., Krüger, A., 2009. Identification of caviar from increasing global aquaculture production — Dietary capric acid as a labelling tool for CITES implementation in caviar trade. *Aquaculture*, 298(1), 51 - 56.

8. Přílohy



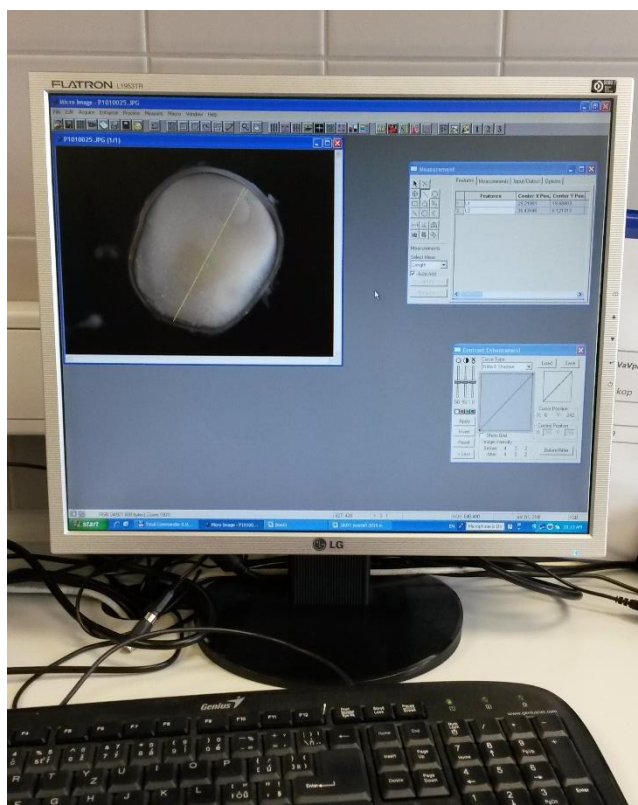
Příloha č. 1: Biopstický odběr ovocytů v průběhu experimentu (Foto: J. Matějková).



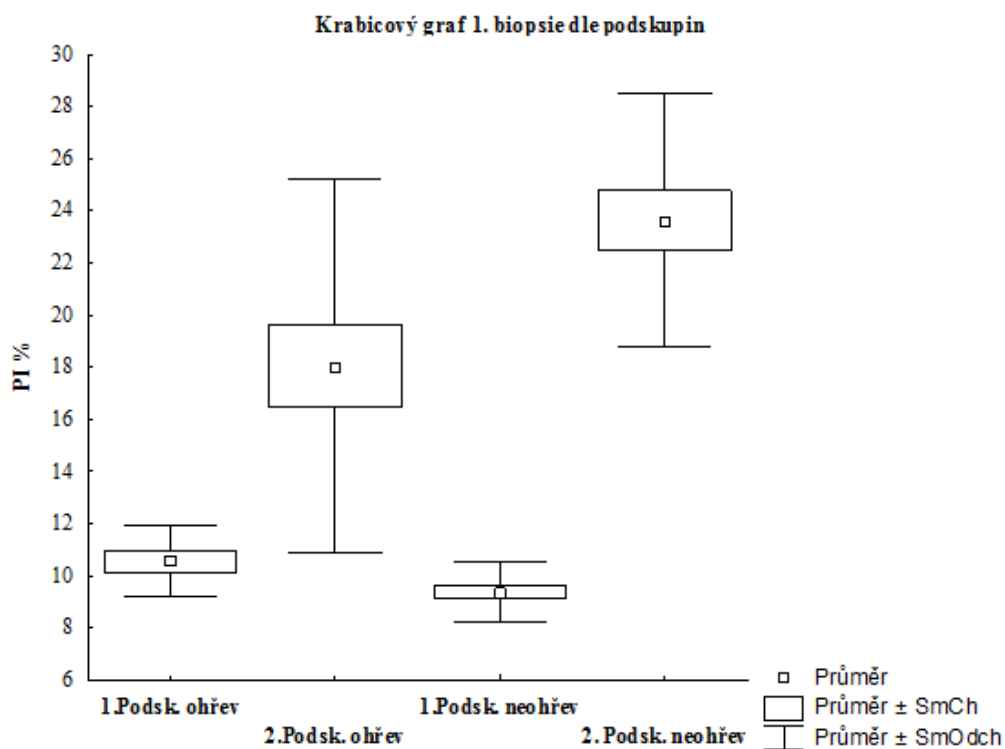
Příloha č. 2: Biopsie gonád jesetera malého (Foto J. Matějková).



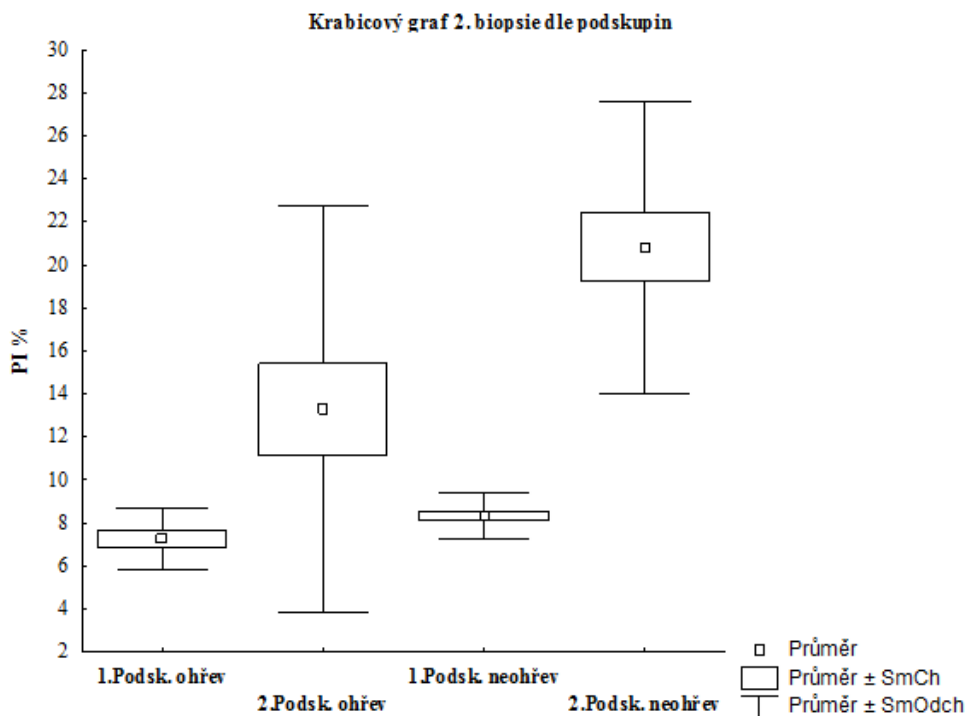
Příloha č. 3: Ovocyt jesetera malého se zřetelně viditelným jádrem (Foto J. Matějková).



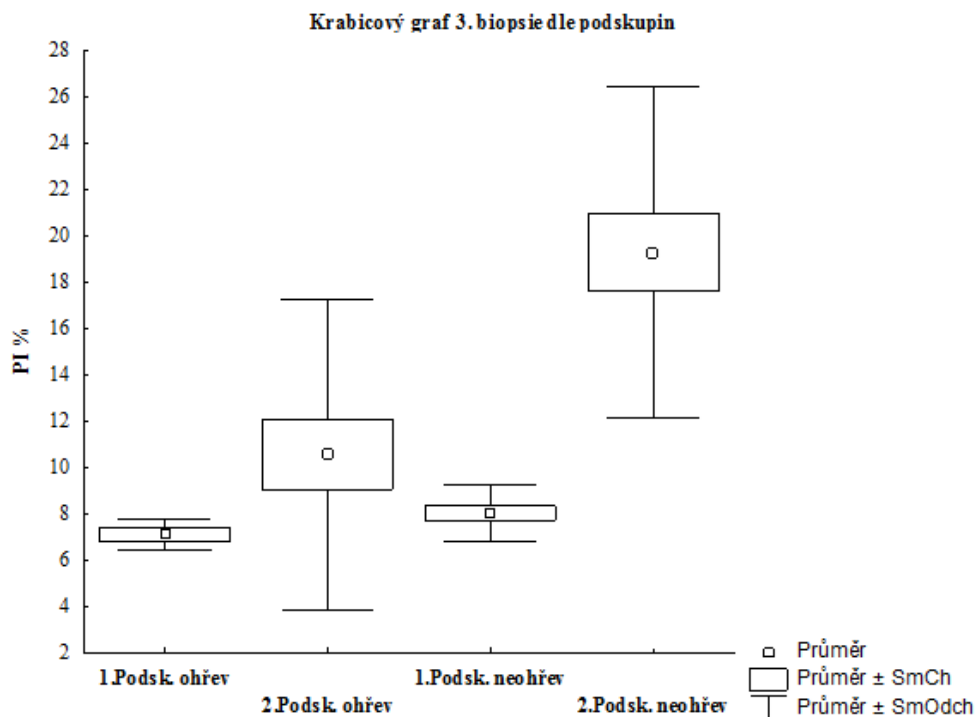
Příloha č. 4: Měření fotografií ovocytů v programu MicroImage 4.0 (Foto J. Matějková).



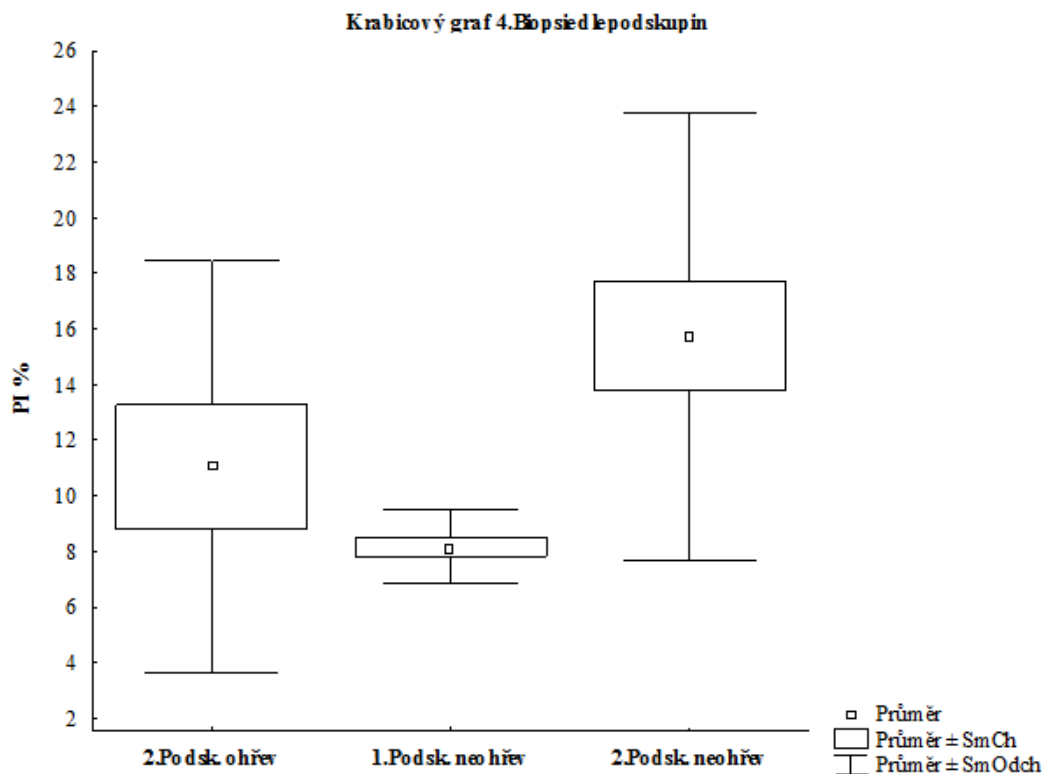
Příloha č. 5: Průměrné hodnoty indexu polarizace jednotlivých podskupin při 1. bioptickém odběru.



Příloha č. 6: Průměrné hodnoty indexu polarizace dílčích podskupin při 2. bioptickém odběru.



Příloha č. 7: Průměrné hodnoty indexu polarizace dílčích podskupin při 3. bioptickém odběru.



Příloha č. 8: Průměrné hodnoty polarizačního indexu podskupin při 4. biopsii.

9. Abstrakt

Porovnání individuálního vývoje zralosti oocytů jikernaček jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) v průběhu předvýtěrového období při odlišných teplotních podmínkách odchovného prostředí

Cílem diplomové práce bylo vypracování studie o vlivu teploty na vývoj zralosti ovocytů jikernaček jesetera malého v průběhu předvýtěrového období. A dále vypracování literární přehledu o tomto druhu.

Na přelomu roku 2013 a 2014 byl proveden experiment s jikernačkami jesetera malého. Experimentální ryby se rozdělily do 2 hlavních skupin. 1. skupina byla exponována oteplené vodě a 2. skupina vodě o přírodní teplotě. U obou skupiny se vždy zhruba po měsíci provedly 4 biopsie ovocytů. Odebrané vzorky byly měřeny a dále se vypočítal polarizační index ovocytu (PI).

Pro přesnější zpracování výsledků se uvnitř skupin rozdělily ryby vždy na 2 podskupiny dle PI při 1. biopsii. 1. podskupiny měly při 1. biopsii $PI \leq 12,5 \%$ a 2. podskupiny $PI > 12,5 \%$.

U méně zralých jikernaček byl vliv teploty statisticky signifikantní ($p < 0,05$), zatímco u více zralých jikernaček tomu bylo naopak ($p > 0,05$). Z celkového hodnocení skupin vyplývá, že teplota neměla signifikantní význam pro rychlost zrání ovocytů.

Výsledky experimentů poukazují na to, že metodu nahřívání je možné využít k urychlení dozrání zejména u méně zralých ryb a k synchronizaci výtěru s ostatními jikernačkami.

Klíčová slova: Polarizační index, biopsie, jeseter malý, ovocyt, zrání, teplota

10. Abstract

Comparison of individual development of oocytes maturation of sterlet (*Acipenser ruthenus*) females during the prespawn period at different temperature conditions

The aim of presented work was a study of the effect of temperature on the development of mature oocytes of sterlet during prespawn period.

At the turn of 2013 and 2014 was conducted our experiment with females of sterlet. Experimental fish were divided into two main groups. The first group was exposed to the heated water and a second group was kept in natural water temperature. Four biopsies were carried out during attempt. The samples were measured, and then was calculated oocyte polarization index (PI).

For more accurate results processing fish were divided into two subgroups within both groups. 1st subgroups had at first biopsy $PI \leq 12.5\%$ and 2 subgroups $PI > 12.5\%$.

In less mature females the effect of temperature was statistically significant ($p < 0.05$) while in more mature females the opposite was true ($p > 0.05$). From a total assessment follows that the temperature had no significant importance for the rate of oocytes maturation ($p > 0.05$).

Experimental results indicate that the heating method can be used to accelerate the maturation especially in less mature fish and for synchronization spawning.

Keywords: polarization index, biopsy, sterlet, oocyte maturation, temperature