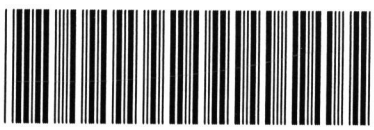
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Analýza semenné plasmy, moči a koncentrace spermií u štiky obecné (*Esox lucius* L.)

Akademická knihovna JU



3291025506

České Budějovice 2006

Radim Slabý

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích **Zemědělská fakulta**

Katedra: rybářství Akademický rok: 2003/2004

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Radim Slabý**

Studijní program: M 4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Rybářství

Název tématu: **Analýza semenné plazmy, moči a koncentrace spermií u štiky obecné**

Zásady pro vypracování:
(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je analýza semenné plazmy, moči se zjištěním koncentrace spermií u štiky obecné ve vztahu k pohyblivosti spermií

Metodika práce bude spočívat v odběru spermatu a moči u minimálního počtu 40 ks spermijujících mlíčáků štiky obecné v období výtěrů, tzn. v období března. U spermatu bude posuzována hustota spermií ve spermatu a stupeň naředění močí. Množství spermií bude určeno počítáním v komůrce pro stanovení počtu červených krvinek podle metodiky Linhart et al. (2003a). V semenné plazmě a moči bude stanoven obsah iontů Na^+, K^+, Ca^{2+} a Mg^{2+} a osmotická koncentrace v $mOsmol.kg^{-1}$ podle metodik Linhart et al. (2003a,b). Dále bude určeno zda nedochází k spontánní aktivaci spermií močí (Cosson et al., 2000). Následně se stanoví procento pohyblivých spermií, rychlost pohybu spermií včetně statistických výpočtů podle metodiky Linhart et al. (2000, 2002, 2003a).

Rozsah grafických prací: 10 - 20 tabulek a grafů

Rozsah průvodní zprávy: 40 - 60 stran

Seznam odborné literatury:

Linhart, O., Cosson J., Mims S.D., Shelton W.L., Rodina, M., 2002. Effects of ions on the motility of fresh and demembranated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. Reproduction, 124, 713-719 (IF 2.3)

Linhart, O., Rodina, M., Bastl, J., Cosson J., 2003b. Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (*Tinca tinca* L.). Journal of Appl. Ichtyol.,19, 177-181. (IF 0.51)

Linhart, O., Mims S.D.,Gomelsky B., Hiott, A.E., Shelton W.L., Cosson J., Rodina, M., Gela, D., Bastl J., 2003a. Ionic and osmolality of paddlefish (*Polyodon spathula,* Acipenseriformes) seminal fluid with motility parameters. Aquaculture International, 11, 357-368 (IF 0.3).

Cosson J., Linhart, O., Mims S.D., Shelton W.L. and Rodina M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish (*Polyodon spathula)* and shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platorynchus*) spermatozoa. J. Fish Biology, 56, 1348-1367.

Babiak I, Glogowski J, Luczynski MJ, Luczynski M, 1997. Effect of individual male variability on cryopreservation of northern pike, Esox lucius L, sperm. Aquaculture Research, 28 (3): 191-197.

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Otomar Linhart, DrSc.

Konzultant: Ing. Marek Rodina

Datum zadání diplomové práce: únor 2004

Termín odevzdání diplomové práce: 30. 4. 2006

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice

L.S.

doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.
Vedoucí katedry

doc. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.
Děkan

V Českých Budějovicích dne 11. 3. 2004

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Analýza semenné plasmy, moči a koncentrace spermií u štiky obecné (*Esox lucius* L.) vypracoval samostatně na základě vlastních měření a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

V Českých Budějovicích

19. dubna 2006

Radim

podpis

Poděkování : doc.Ing. Otomaru Linhartovi DrSc., Ing. Marku Rodinovi, Marii Pečené, Ivaně Samkové a celému kolektivu VÚRH Vodňany za pomoc a rady při zpracování diplomové práce.

OBSAH

1. Úvod ..... 3.

2. Literární přehled ..... 6.

2.1 podřád Štikovci (*Esocoidei*) - Haplomi ..... 6.
2.2 čeleď Štikovití (*Esocidae*) - charakteristika ..... 6.
2.3 Štika obecná (*Esox lucius* L.) - charakteristika druhu ..... 8.
2.3.1 Systematické znaky ..... 8.
2.3.2 Pohlavní dvojtvárnost ..... 9.
2.3.3 Zevní popis těla ..... 9.
2.3.4 Morfologie a anatomie ..... 10.
2.3.4.1 Močový měchýř ..... 12.
2.3.5 Nároky na prostředí a chování ..... 12.
2.3.6 Věk a růst ..... 13.
2.3.7 Potrava ..... 15.
2.3.8 Rozmnožování ..... 16.
2.3.8.1 Anatomie pohlavních orgánů ..... 17.
2.3.8.2 Pohlavní dospělost ..... 18.
2.3.8.3 Poměr pohlaví ..... 19.
2.3.8.4 Plodnost (množství jiker a spermií) ..... 19.
Plodnost jikernaček
Plodnost u mlíčáků (objem ejakulátu a množství spermií)
2.3.8.5 Biologie spermií a jiker ..... 25.
Biologie spermií
Biologie jiker
2.3.8.6 Semenná plasma ..... 27.
2.3.8.7 Pohyblivost spermií ..... 29.
2.3.8.8 Složení moči a její vliv na pohyblivost spermií ..... 31.
2.3.8.9 Roční pohlavní cyklus u mlíčáků a jikernaček ..... 33.
2.3.8.10 Dozrávání samčích a samičích pohlavních buněk ..... 39.
Dozrávání samčích pohlavních buněk
Dozrávání samičích pohlavních buněk
2.3.8.11 Hormonální řízení diferenciace pohlaví a dozrávání pohlavních buněk ..... 40.
Hormonální řízení zrání pohl. buněk u mlíčáků
Hormonální řízení zrání pohl. buněk u jikernaček
2.3.8.12 Třecí akt ..... 42.
2.3.8.13 Umělá reprodukce ..... 44.
2.3.8.13.1 Použití aktivačních a immobilisačních roztoků .. 46.
Aktivační (oplozovací roztoky)
Immobilisační roztoky
2.3.8.13.2 Možnosti hormonálního ošetření ..... 49.
Indukce ovulace
Stimulace spermiace
2.3.8.13.3 Krátkodobé uchování jiker ..... 51.
2.3.8.13.4 Krátkodobé uchování spermatu ..... 52.
2.3.8.13.5 Zmrazování spermatu ..... 53.
2.3.8.13.6 Umělá inseminace za použití speciální ředící techniky dle Montalembert et al. (1978) ..... 57.
2.3.8.14 Vývoj nového jedince ..... 58.
2.3.8.15 Početnost a produkce populace ..... 60.
2.3.9 Choroby a cizopasníci ..... 63.

3. Materiál a metodika ..... 67.

3.1 Odběr vytřeného spermatu ..... 67.
3.2 Odběr moči ..... 67.
3.3 Odběr testikulárního spermatu ..... 68.
3.4 Stanovení koncentrace spermií ..... 68.
3.5 Pozorování a vyhodnocení pohyblivosti a rychlosti spermií ..... 69.
3.6 Stanovení hodnot spermatokrytu ..... 71.
3.7 Měření osmotické koncentrace semenné plasmy a moči ..... 71.
3.8 Analýza dat ..... 71.

4. Výsledky ..... 73.

4.1 Exteriérové ukazatele ..... 73.
4.2 Stav gonád ..... 73.
4.3 Objem odebraného spermatu a moči ..... 73.
4.4 Koncentrace spermií ..... 73.
4.5 Spermatokryt ..... 74.
4.6 Osmolalita ..... 74.
4.7 Ukazatele plodnosti ..... 75.
4.8 Rychlost spermií ..... 75.
4.9 Procento pohyblivých spermií (PPS) ..... 77.
4.10 Celková doba pohybu spermií ..... 78.

5. Diskuze ..... 79.

5.1 Exteriérové ukazatele ..... 79.
5.2 Stav gonád ..... 79.
5.3 Objem odebraného spermatu a moči ..... 80.
5.4 Koncentrace spermií ..... 80.
5.5 Spermatokryt ..... 81.
5.6 Osmolalita ..... 81.
5.7 Ukazatele plodnosti ..... 82.
5.8 Rychlost a procento pohyblivých spermií ..... 82.
5.9 Celková doba pohybu spermií ..... 83.

6. Závěr ..... 84.

7. Přílohy ..... 85.

8. Seznam literatury ..... 104.

Vysvětlivky

SPZ_V ... vytřené sperma

SPZ_T ... testikulární sperma

APP ... absolutní pracovní plodnost

RPP ... rel. pracovní plodnost

ROP ... rel. objemová plodnost

TL ... celková délka ryby

CL ... délka těla ryby

KF ... kondiční faktor

M_g ... hmotnost gonád

GI ... gonadosomatický index

1. ÚVOD

Štika obecná je vyhledávaným objektem lovu. Vyniká vysokou konzumní i sportovní hodnotou. Štika obecná je hodnocena jako hospodářsky velmi cenná ryba, která je významným objektem chovu a obhospodařování v našem rybářství. V rybníkářství se uplatňuje především jako vedlejší ryba v polykulturních obsádkách s kaprem, ve volných vodách patří k nejcennějším druhům označovaným též jako ryby ušlechtilé. Štika je vedle candáta nejvýznamnějším a hlavním představitelem málo četné skupiny dravých (piscivorních) druhů ryb. Tato skutečnost v podstatě podmiňuje a určuje význam, uplatnění a funkci štiky jak v oblasti rybářské výroby na rybnících, tak zejména v rybích biocenozách volných vod nebo i v účelových rybích obsádkách vodárenských nádrží.

V rybníkářství je štika využívána jako vedlejší druh přisazovaný k obsádce kapra a to zejména do těch rybníků, kde se vyskytuje větší množství tzv. nežádoucích či plevelných druhů ryb (plotice, perlín, karas, hrouzek, okoun aj.). Uplatnění a produkce štiky v rybnikářské výrobě je omezené vzhledem k současnému výrobnímu cyklu uplatňovanému při obhospodařování rybníků.

Ve volných vodách mimopstruhového charakteru je štika hodnocena jako hospodářsky velmi cenná ryba a to jak z hlediska její funkce v rybí biocenóze, tak i jako objekt sportovního rybolovu na udici, který je u nás hlavním způsobem těžby ryb z těchto vod. Štika prakticky již od velikosti 100 mm se stává výlučným dravcem, který se živí jinými druhy ryb a nebo i vlastními soukmenovci, první případy kanibalismu se objevují u jedinců o délce okolo 30 mm. Rybí obsádka v tekoucích či stojatých vodách, pokud by nebyla narušována přímo či nepřímo následky činnosti člověka, by byla do určité míry vyvážená. V podstatě to znamená, že by v ní byly v určitém poměru zastoupeny dravé i nedravé druhy ryb. V současné době však ve většině našich volných vod máme rybí obsádky nevyvážené, v nichž se projevuje naprostý nedostatek dravých druhů ryb. Jaké jsou důsledky této skutečnosti? Ve volných vodách mimopstruhového charakteru je celá řada druhů, které nejsou vůbec předmětem rybolovu, např. ouklej obecná, hrouzci, z větší části i další druhy jako je plotice obecná, perlín ostrobřichý, cejnek malý, ježdík obecný a další. Potom je tam řada druhů, které jsou rybáři exploatovány pouze z menší části, např. ostroretka stěhovavá, jelec tloušť, jelec proudník, parma obecná, cejn velký, okoun říční, a jiné. V podstatě produkce vytvářená výše uvedenými druhy ryb v našich vodách není vůbec či pouze v menší části využívána a zhodnocena pro potřebu lidské výživy. Dravé druhy ryb a v našem případě konkrétně štika obecná, jsou prakticky jedinou složkou rybí obsádky, která z části využívá

výše uvedených zdrojů (produkce živočišné bílkoviny) a přeměňuje ji v produkci atraktivní pro rybáře – ve štičí maso. Proto je přítomnost dravých druhů ryb a tedy i štiky ve většině volných vod v co nejvyšším množství nenahraditelná a nezbytná.

U štiky tvoří hlavní část potravy ty druhy, které jsou ve vodě nejpočetnější a tedy i nejsnáze dostupné. Znamená to, že štika se živí hlavně těmi druhy ryb, které jsou přemnožené a tedy na snížení jejich početnosti máme zájem i z rybářského hlediska. V tom spočívá základní biomelioračního význam a funkce štiky v rybích biocenózách volných vod. Uvědomíme-li si, že štika na 1 kg přírůstku hmotnosti vlastního těla spotřebuje přibližně 4-6 kg rybího masa, využívá poměrně efektivně potravy, zejména pokud ji tvoří hospodářsky méněcenné druhy ryb. O jak velké množství nevyužívaných ryb se jedná, které štika zhodnotí v našich vodách, je možno si učinit určitou představu na základě následujících údajů. Podle Vostradovského (1971) populace štiky v ÚN Lipno spotřebovala v průměru 28-42 kg.ha-1 hmotnosti jiných druhů ryb za rok. Z toho podstatnou část tvořily druhy méněhodnotné a přemnožené. Jestliže v roce 2004 bylo z rybářských revírů v Čechách a na Moravě uloveno celkem 161,73 tun štiky obecné, spotřeboval tento druh na výše uvedený úlovek minimálně pětinásobné množství tj. asi 842 tun převážně méněhodnotných a nelovených druhů ryb, jejichž produkce by jinak nebyla využita.

Štika je významným objektem rybolovu. Z hlediska sportovních rybářů je lov štiky atraktivní a vyhledávaný. Rovněž vysoce je ceněna štika i z hlediska konsumního. Charakteristické pro štiku v porovnání s jinými druhy dravých ryb je její poměrně snadná ulovitelnost, což je jedna z příčin poměrně nízkých stavů tohoto druhu ve volných vodách. Na druhé straně je však nutno tuto vlastnost štiky posuzovat vysoce kladně, neboť umožňuje vysoké využití produkce vytvářené tímto druhem ve volných vodách.

Štika našla významné uplatnění i v účelových rybích obsádkách. Na základě poznatků o nepřímém působení rybí obsádky na kvalitu vody ve vodárenských nádržích byla věnována pozornost funkci a uplatnění jednotlivých druhů ryb z výše uvedeného hlediska. Jako nežádoucí a tedy k případnému zhoršení kvality akumulované vody přispívající druhy je možno označit především ty, které se živí zooplanktonem a vytvářejí početné či přemnožené populace (plotice, ouklej, okoun aj.). Dravé ryby mohou velmi efektivně přispět svým biomelioračním působením k potlačení početnosti z vodárenského hlediska nežádoucích druhů ryb. Proto se dravé druhy staly základní složkou tzv. účelových rybích obsádek ve většině vodárenských nádržích, kde má přispívat především k omezení početnosti planktonofágních druhů ryb s vysokou početností.

Význam a uplatnění štiky jako producenta rybího masa v našich podmínkách je

možno nejlépe dokumentovat daty o produkci tohoto druhu v rybnících a o úlovcích štiky z volných vod (rybářských revírů). Produkce – výroba konsumních štik u podniků a firem v oblasti rybářství v České republice se dlouhodobě i v posledních letech pohybuje v rozmezí několika desítek tun ročně. Ve výhledu nelze počítat s tím, že by produkce štiky v podmínkách dnešního způsobu obhospodařování rybničních ploch mohla zaznamenat podstatný nárůst. Produkce štiky je podmíněna odpovídajícím množstvím potravy – živých ryb (na 1 kg přírůstku štiky je nutno počítat se 4 – 6 kg hmotnosti jiných ryb) a to je v podmínkách zvyšující se intensity rybářské výroby v oblasti rybníkářství nereálné.

Mnohem lepší produkční perspektivy má výlov štiky z volných vod (rybářských revírů) formou sportovního rybolovu. Ve volných vodách je a bude dostatečná zásoba méněhodnotných druhů ryb, které nejsou v dostatečné míře a nebo vůbec předmětem sportovního rybolovu, ale na druhé straně tvoří vhodnou potravní základnu pro štiku. Roční úlovek štiky na udici v České republice se pohybuje okolo 160 tun a vykazuje dlouhodobou stagnaci. Je možno se domnívat, že existují reálné možnosti dalšího zvýšení těžby štiky z volných vod odlovem na udici. Nutno však přiznat, že existuje určitá biologická hranice omezující výskyt a početní stav štiky ve volných vodách. Prozatím však kapacita jednotlivých vodních biotopů co se týče štiky využita není, takže lze reálně usilovat o další zvýšení početních stavů a tedy i úlovků štiky z volných vod.

Jedním z hlavních faktorů ovlivňujících zarybnění štikou v rybářských revírech je dostatek a kvalita životaschopného plůdku, respektive ročka štiky obecné. K tomu zákonitě patří dokonalé zvládnutí umělých výtěrů a tedy i co nejlepší zdokumentování a pochopení rozmnožovací biologie tohoto druhu. Doufám, že k tomuto účelu přispěje i tato práce.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 podřád Štikovci (*Esocoidei*) - Haplomi

Ryby s nápadně protaženými čelistmi (štiky) nebo i s čelistmi normální délky (blatňáci), s ocasní ploutví vykrojenou (štiky) nebo zaokrouhlenou (blatňáci, dalia). Obě předčelistní kosti se vzájemně nedotýkají. Plynový měchýř spojen kanálkem se střevem. Břišní ploutve v obvyklé poloze, přibližně v polovině těla. Šupiny okrouhlé (cykloidní). Chybí tuková ploutev. Z lebečních kostí chybí *orbitosphenoideum*. V čichové části lebky se vyskytuje párová krycí kost (*mesethmoideum*). Horní čelist tvoří nepohyblivá přední kost čelistní (*praemaxillare*) a vlastní čelistní kost (*maxillare*), tato poslední nenese zuby. Parietalia jsou rozdělena svrchní kostí týlní (*supraoccipitale*). Parapofýzy obratlů nesrůstají s jejich těly. Jsou svrchní i spodní mezisvalové kosti a svrchní (pravá) i spodní (nepravá) žebra. Hřbetní i řitní ploutev posunuty k zádi těla. Pylorické přívěsky chybějí.

Párový mesethmoid se vyskytuje i u některých koruškovitých, přítomnost náhradní kosti *praeethmoideum* ukazuje na vývojově starý původ (vyskytuje se např. u kaprouna - *Amia*). Berg (1955) doporučuje nevyčleňovat tento podřád do samostatného řádu a dává přednost jeho ponechání v řádu *Clupeiformes*, neboť všechny znaky *Esocoidei* se vyskytují v té či jiné kombinaci u bezostných (*Clupeiformes*). Jestliže *Esocoidei* by měli tvořit řád, potom i ostatní podřády (*Gonorhynchoidei, Pantodontoidei, Osteoglossoidei, Notopteroidei, Opisthoproctoidei*) by bylo možné pokládat za samostatné řády, což Berg (1955) sice nevyloučil, upozornil však na nutnost nashromáždit větší materiál o anatomii těchto skupin. Nikoľskij (1950) pokládá *Esocoidei* za samostatný řád. *Esocoidei* mohli vzniknout odštěpením od koruškovitých koncem křídy. Berg (1955) rozeznává 3 nadčeledi (*Dallioidae, Umbroidae* a *Esocoidae*), každá s 1 recentní čeledí (*Dalliidae, Umbridae, Esocidae*), viz. též Lindberg (1971). Ve fauně ČR žijí zástupci čeledí *Umbridae* a *Esocidae*, každá s jediným rodem a druhem (Baruš et Oliva 1995).

2.2 čeleď Štikovití (*Esocidae*) - charakteristika

Čeleď štikovití (*Esocidae*) zahrnuje pouze jeden rod (*Esox*), který má pět druhů. Jeden druh (*E. lucius*) žije v Evropě, dva druhy (*E. lucius a E. reicherti*) se vyskytují v Asii a čtyři druhy (*E. lucius, E. americanus, E.masquinongy, E. niger*) jsou rozšířeny v Severní Americe. Všechny druhy štik mají společnou charakteristickou stavbu těla, které je podlouhle válcovitého tvaru se širokým hřbetem, ukončené vpředu protáhlou dorsoventrálně zploštělou

hlavou s ozubenou široce rozevíratelnou tlamou. Kosti předčelistní se vzájemně nestýkají. Obratle nejsou prodlouženy, není jich méně než 48. Je vytvořen myodom. V lebce se vyskytuje *basisphenoideum, supramaxillare, nasale, ectopterygoideum i infraorbitale.* V kostech chybějí kostní buňky. Chybí *inframandibulare*, přídatná kost přiléhající od spodu ke kosti zubní (*dentale*) (Baruš et Oliva 1995). Hřbetní a řitní ploutve jsou značně vyvinuté a posunuté dozadu k ocasní ploutvi. Párové prsní a břišní ploutve mají normální postavení. Druhové rozdíly nejsou nijak výrazné a v místech společného výskytu vznikají mezi jednotlivými druhy kříženci. Štiky jsou typickými představiteli dravců ve sladkých vodách. Vyskytují se od svrchního eocénu podnes (Lusk et Krčál 1982).

Esox lucius Linnaeus, 1758 - jako jediný druh má cirkumpolární rozšíření, tj. vyskytuje se na severní polokouli v pásu mezi 35. a 75. rovnoběžkou. V Evropě byl tento druh původně rozšířen ve všech vodách s výjimkou Pyrenejského poloostrova, jižní části Itálie, Dalmácie a jihozápadní části Balkánského poloostrova. Tento druh byl prokázán i v Portugalsku a zaveden i ve Španělsku. V Asii se vyskytuje v povodí Aralského jezera a Severního ledového oceánu. V Severní Americe tvoří areál rozšíření tohoto druhu oblast od Aljašky (včetně) na jih až po Missouri a Nebrasku, na východě tvoří hranice Apalačské pohoří a na západě Skalisté hory, viz. obr.1 (Lusk et Krčál 1982).

Esox reicherti Dybowski, 1869 - tento druh žije pouze v povodí řeky Amur a ve vodách Sachalinu.

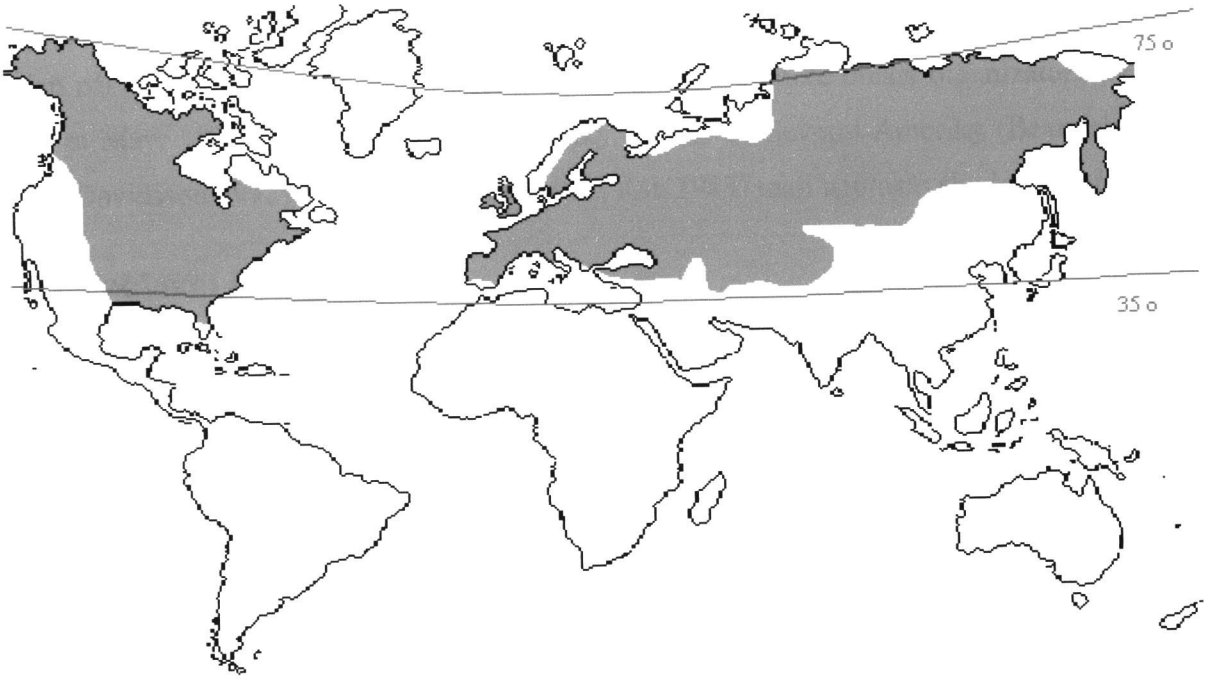
Esox americanus Gmelin, 1788 - areál tohoto druhu tvoří východní část Severní Ameriky počínaje povodím řeky St. Lawrence na severu, dále zahrnuje oblast velkých jezer na hranicích USA a Kanady, celé východní pobřeží USA včetně Floridy a dále až po povodí Mississipi.

Esox masquinongy Mitchill, 1824 - areál výskytu tohoto druhu tvoří oblast velkých jezer na hranicích USA a Kanady, dolní horní část povodí řeky Mississipi a povodí řeky Ohio.

Esox niger Lesueur, 1818 - tento druh žije ve vodách v oblasti pobřeží Atlantického oceánu od řeky St. Lawrence na severu až po Floridu a dolní část toku Mississipi až po Tennessee na jihu.

Původní areál rozšíření jednotlivých druhů se postupně mění, neboť člověk záměrně introdukuje jednotlivé druhy do oblastí, kde se původně nevyskytovaly (např. zavedení *E.lucius* do vod na Pyrenejském poloostrově) a nebo jednotlivé druhy rozšiřují svůj areál samovolně v důsledku propojení jednotlivých povodí kanály atd. (Lusk et Krčál 1982).

Obr.1. Výskyt štiky obecné (Esox lucius L.) (Lusk et Krčál 1982).



2.3 Štika obecná (*Esox lucius* L.) - charakteristika druhu

Původní biotopy výskytu štiky představují dolní úseky řek s inundačním územím, tůně, odstavená ramena a jezera. Štika obecná vzhledem ke své vysoké přizpůsobivosti a díky vysazování násad tohoto druhu obývá prakticky většinu našich vod. V tekoucích vodách se s ní setkáváme od dolních částí až po středně případně i horní úseky s výjimkou nejvýše položených potoků a bystřin. Obývá všechny typy stojatých vod kromě vysokohorských jezer. Štika je chována i v rybnících jako vedlejší druh, který zhodnocuje biomasu plevelných ryb, s obsádkou kapra. V našem rybářství je štika hodnocena jako cenný a hospodářsky významný druh, který je důležitým objektem umělého chovu (Lusk-Krčál, 1982).

2.3.1 Systematické znaky

Ve hřbetní ploutvi nalezl Oliva (1963) 3-6 tvrdých (nerozvětvených) a 12-16 měkkých (rozvětvených) paprsků. V řitní ploutvi bývá 4-5 tvrdých a 12-14 měkkých paprsků, v prsní ploutvi je 1 tvrdý a 11-16 měkkých paprsků. V břišní ploutvi se vyskytuje 1-2 tvrdé a 7-11 měkkých paprsků. V postranní čáře počet šupin kolísá v rozmezí 110-144, nad postranní čarou může být 14-17 řad šupin, pod postranní čarou potom 12-15 řad šupin. Berg (1948-1949) udává počet obratlů (59) 60-62, obvykle 61. Podpůrných paprsků žaberní blány (*radii branchiostegi*) je 13-16. Průměrný počet jamek postranní čáry na dolní čelisti je 9,89. Délka hlavy v délce těla je 34-31%, se stářím se zmenšuje, výška těla 16-17% v délce těla. Oči mají

průměr 15-11% délky hlavy, stářím se velikost relativně zmenšuje (Baruš et Oliva 1995). Karyotyp je složen výlučně z **a** chromozómů postupně klesající velikosti, NF=50, 2n=50. Jeden pár větších elementů nese v oblasti přiléhající centromeře oblast organizátoru jadérka (Ráb et Mayr 1987). Vyšetřovaní jedinci štiky obecné ze Severní Ameriky (Beamish et al. 1971; Davidsson 1972) a Evropy (Nygren 1968, Ráb 1983) mají naprosto shodný karyotyp.

2.3.2 Pohlavní dvojtvárnost

V době tření mají samice větší objem břicha. Sexuální dimorfismus však není výrazný, samci mají v relativních hodnotách nepatrně delší párové ploutve (Vladykov 1931). Demčenko (1963) však zjistil možnost určení pohlaví podle tvaru močopohlavní bradavky. U samic je okrouhlá bez výraznějšího příčného zářezu. U samců se vyskytuje naopak příčný zářez. Jiným rozlišovacím znakem může být index vztahu mezi hmotností a délkou ryby. U samic je tento index v zimním období v průměru okolo 17,4, u samců 10,3. U starších ryb hodnoty indexu vzrůstají. Krátce po výtěru byl zjištěn vyšší průměrný počet erytrocytů u samců (v $1mm^3$ prům. 1,639mil.) než u samic (1,194mil.), také obsah hemoglobinu byl nižší (Červinka et Pecha, 1975).

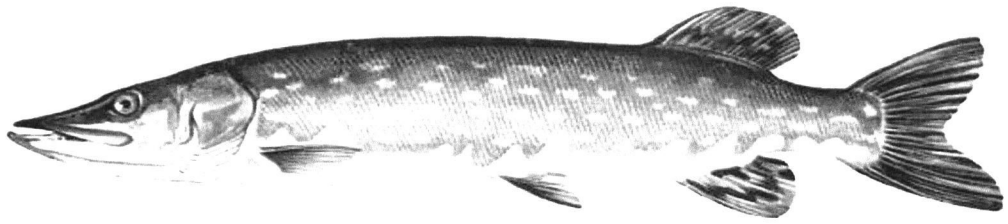
Určením pohlaví podle vnějších znaků se zabýval velice precizně Casselman (1974). Možnost určení pohlaví podle postavení vývodů pohlavních, močových a trávicích cest vysvětluje Billard (1984).

2.3.3 Zevní popis těla

Tělo je válcovité se širokým hřbetem, vpředu přechází v protáhlou klínovitou dorsoventrálně zploštělou hlavu, v zadní části se za hřbetní ploutví zužuje v krátký ocasní násadec. Hlava má široká (zobákovitá) ústa s mohutně rozevíratelnými ozubenými čelistmi, ostré klínovité zuby jsou i na všech kostech ohraničujících ústní dutinu. Velké nažloutlé oko je posazené téměř do úrovně rovného čela nad koutky úst, líce a skřele jsou drobně ošupené. Tělo je kryté protáhlými poměrně malými cykloidními šupinami charakteristického tvaru. Postraní čára bývá často zdvojena či rozvětvena. Řitní a zejména hřbetní ploutev jsou posunuty dozadu směrem k ocasní ploutvi, obě ploutve jsou nasazeny přibližně ve stejné svislé rovině. Spolu s ocasní ploutví, která je tupě vidlicovitě vykrojená, vytváří důležitou část pohybové soustavy umožňující štice rychlý výpad za kořistí. Prsní ploutve jsou posunuty směrem dopředu až na hrdlo pod konec skřelí. Břišní ploutve jsou umístěny na břichu přibližně v polovině těla. Uspořádání a zevní morfologie těla štiky je přizpůsobena dravému

způsobu života a umožňuje štice vyvinout velkou rychlost s maximálním zrychlením ze stavu klidu, viz obr. 2.

Obr.2. Zevní morfologie a zbarvení štiky obecné (Esox lucius L.).



Ve zbarvení štiky se uplatňuje jak široká individuální variabilita tak vliv různorodého vodního prostředí. Základní zbarvení má různé odstíny, zelené, hnědošedé, žluté a bílé. Hřbet bývá tmavě, boky světleji hnědošedo zeleně zbarvený, břicho bílé či nažloutlé. Na bocích, které jsou zbarveny více do zelena, jsou žlutavé či bělavé skvrny, které často vytváří příčné pásy (pruhování). Modrošedé skvrny bývají i na světlém břichu. Šupiny zejména na bocích mají často zlatý lesk. Prsní a břišní ploutve jsou světlé, hřbetní, řitní a ocasní ploutve jsou tmavější žlutavošedé, u některých jedinců s červenavým nádechem. Na nepárových ploutvích jsou nepravidelně nebo v příčných řadách tmavé skvrny, ojediněle se s nimi můžeme setkat i na párových ploutvých. Proměnlivost zbarvení u štiky je ohromná. Obecně u starších jedinců je kontrastnost, výraznost a sytost barev mnohem větší než u mladších jedinců, kde zbarvení je tlumené s jakýmsi stříbřitým tónem. (Lusk et Krčál 1982). U nejmladších jedinců převládá zelená barva (tzv. trávnice, Dyk 1946, Hrabě et al. 1973).

2.3.4 Morfologie a anatomie

Jednotlivé orgány, ústrojí a smysly jsou u štiky v zásadě obdobné jako u ostatních našich ryb. Dravý způsob života štiky značně určuje a ovlivňuje utváření i funkci jednotlivých orgánů, tělních systémů a smyslů.

Velmi výkonné jsou smyslové orgány. Štika je v podstatě ryba s denní aktivitou, při čemž více než 80% denního období stráví v klidu. Oko zaostřuje pohybem čočky k sítnici či opačně. Velmi výrazný je u štiky systém postranní čáry, který má významnou úlohu při orientaci jedince v prostředí a získávání potravy. Otvory a kanálky spojující vlastní smyslové receptory s vnějším okolím jsou poměrně velké a dobře pozorovatelné. Jsou vyvinuté i na hlavě, kde tyto otvůrky dosahují velikosti až špendlíkové hlavičky. Smyslová čára bývá u štiky často rozvětvená a nebo i zdvojená. Staticko-akustický systém je u štiky obdobný jako u jiných ryb. Chuťový smysl se nachází v ústní dutině. Nervový a hormonální systém zajišťující

koordinaci celého rybího organismu, vnímání i reakci organismu na podněty z vnějšího prostředí je u štiky obdobný jako u ostatních ryb s tím, že má značně vyšší citlivost a reaktivnost.

Dýchací soustava spolu s krevní soustavou zajišťují metabolickou výměnu plynů (O_2, CO_2) a některých dalších odpadních produktů metabolismu organismu, transport živin a jiných potřebných látek a jiné významné funkce. Z hlediska nároků štiky na obsah kyslíku ve vodě, můžeme tento druh zařadit mezi středně až vysoce náročné ryby, těžce snáší vody zakalené anorganickými látkami. Žaberní systém je velmi výkonný, na 1g hmotnosti štiky připadá asi 1.5cm^2 plochy žaberních lístků. Rovněž srdce, které leží na hranici mezi žaberní a tělní dutinou, je u štiky oproti jiným rybám mohutnější.

V břišní dutině se nachází zažívací soustava, plynový měchýř, pohlavní orgány, ledviny, případně vnitřní tuk. Zažívací soustava je přizpůsobena na dravý způsob života, pro trávení živočišných bílkovin. Široce rozevíratelné čelisti spolu s ozubenou ústní dutinou umožňují bezpečné uchopení i objemné kořisti. Zuby jsou klínovité, velmi ostré, směřují šikmo dozadu a nacházíme je na kostech a čelistech ohraničujících ústní dutinu. Ta přechází přes mezižaberní prostor v krátký roztažitelný jícen. Jícen ústí do vakovitého značně roztažitelného žaludku, kde začíná trávení pozřené kořisti. V žaludku je kyselé prostředí (pH 4-5) a při trávení se tam uplatňuje především ferment pepsin. Intensita trávení závisí na úrovni intensity látkového metabolismu, který je u ryb určován i teplotou vody a dále i stupněm naplnění zažívacího traktu. U štiky strávení potravy trvá 2-5 dní. Žaludek přechází v poměrně krátké střevo, kam ústí i vývody jater a slinivky břišní. Střevo vytváří dvě kličky - zadní a přední, přechází v krátkou konečníkovou část a řitním otvorem vyúsťuje ven. Trávení potravy ve střevě probíhá při pH vyšším než 7 a významně se při něm uplatňují i produkty jater a zejména slinivky břišní. Vzhledem k tomu, že potrava štiky je poměrně snadno stravitelná, je celý zažívací trakt (jícen, žaludek a střevo) poměrně krátký. Poměr délky těla a zažívací trubice se u štiky pohybuje v rozmezí 1 : 0.8-1.3 a její hmotnost dosahuje okolo 2% hmotnosti celé ryby. Játra jsou u štiky poměrně velká, jejich velikost v průběhu roku kolísá a jejich podíl se pohybuje v rozmezí 1.5-3.5% celkové hmotnosti ryby. Na játrech se nachází podlouhlý žlučový měchýř. V místě kaudální střevní kličky se nachází tmavěrudá slezina.

Plynový měchýř je u štiky protáhlý válcovitý vak ležící na hřbetní straně břišní dutiny. V přední části je spojen kanálkem s jícnem (štika patří mezi tzv. ryby vzdušnohrdlé - *Physostomi*). Párové ledviny leží v hřbetní části břišní dutiny pod páteří, společný močovod před vyústěním ven z těla vytváří močový váček. Velikost pohlavních orgánů se mění v průběhu roku (pohlavní zralost) i v průběhu života (pohlavní dospělost). Gonády dosahují

největší velikosti v předjarním období těsně před třením. U samců mohou gonády dosáhnout 2-3% hmotnosti celé ryby, u samic podstatně více, a to až 30%. V tělní dutině se nachází i vnitřní tuk, který má reservní funkci a jeho množství kolísá v průběhu roku. (Lusk et Krčál 1982).

2.3.4.1 Močový měchýř

U štiky nebylo zatím popsáno uložení močového měchýře. Podle dosavadních výzkumů ale štika močový měchýř má. Močový měchýř hraje u sladkovodních ryb významnou roli, protože zadržuje v těle důležité ionty (Curties et Wood 1991) a byl popsán např. u tilapie (*Oreochromis mossambicus*) (Linhart et al. 1999) nebo sumce velkého (*Silurus glanis*) (Linhart et al. 1993).

Linhart et al. (2003) zkoumal močový měchýř u lína (*Tinca tinca*), kde se nachází jako malý bělavý váček přiléhající těsně k semennému kanálku. Obsahoval od 0,5-2ml moči, což je podobný objem jako u tilapie (Linhart et al. 1999), ale menší než u sumce velkého (Legendre et al. 1996).

2.3.5 Nároky na prostředí a chování

Štiku je možno označit za rybu stanovištní s teritoriálním chováním, která si svůj životní okrsek aktivně brání proti jiným příslušníkům téhož druhu. Tato skutečnost v podstatě spolu s potravními podmínkami určuje teoretickou horní hranici početnosti populace štiky v tom kterém vodním biotopu. Štice nejlépe vyhovuje prostředí stojatých eutrofních vod. Vyhledává a zdržuje se v členitém prostředí, kde nachází úkryt, tj. okolo břehů, na pokraji rákosin, v porostech vodních rostlin, mezi kameny atd. Lépe jí vyhovují teplejší vody, kde i rychleji roste. Štika je velmi přizpůsobivá a vyskytuje se téměř ve všech vodách, kam se jí podařilo proniknout. Proniká i do pstruhových toků a říček, kde se zdržuje v hlubších místech. V tekoucích vodách jí nejlépe vyhovují hlubší tůně, kde může najít úkryt pod břehem nebo pod kořeny a křovinami, slepá a odstavená ramena. V nádržích se zdržuje v místech s možností úkrytů, tj. v podstatě v příbřežní oblasti, kde jsou porosty vodních rostlin, zatopené kameny, kmeny a křoviny.

Každá štika má svůj okruh - životní okrsek, jehož velikost narůstá s velikostí jedince, dále je významně ovlivněna i členitostí prostředí a i množstvím dostupné potravy. Velmi zajímavých výsledků a poznatků o stanovištnosti štiky v ÚN Lipno pomocí značkování dosáhl Vostradovský (1969). Z celkem označených a vrácených označkovaných štik bylo 80% uloveno do vzdálenosti 2km od místa vypuštění (i po třech letech v nádrži) a z toho dokonce

55% bylo uloveno v okruhu 100m od místa vypuštění. Výsledky výše uvedené dokazují minimální migrační projev u tohoto druhu a potvrzují jeho stanovištnost. Životní okrsek štiky je poměrně malý a pokud je v něm nedostatek potravy, štika stanoviště neopouští, raději hladoví a pomaleji roste. Tuto skutečnost potvrdil svými poznatky z Lipna Vostradovský (1969), který zjistil, že migrující štiky mají rychlejší délkový i hmotnostní růst, než štiky, které své stanoviště nemění. Je to důsledek toho, že migrující štiky mají větší možnost setkání s kořistí než jedinci stanovištní, kteří čekají na kořist. Výsledky z Lipna prokazují minimální migrační projevy štik a charakterizují tento druh jako stanovištní, který i po několika letech zůstává v těsné blízkosti místa vypuštění. Nelze však vyloučit ani opakující se jarní příchody pohlavně zralých jedinců na stálá trdliště, i když podmínky k uložení jiker nejsou zcela příznivé. Nasvědčuje tomu i opakované jarní ulovení značkovaných štik na stejných stanovištích i po několika letech. Někteří autoři spíše uvažují o stanovištnosti, jako např. Carbine (1945), Oliva (1956), nebo se domnívají, že existují rozdíly v závislosti na velikosti jezera (Carbine et Applegate 1946). Cenné jsou údaje Hessleho (1934) ze Švédska, který během jednoletého pokusu získal většinu značek ze štik chycených do okruhu 1km od místa vypuštění. Přesnější údaje např. z evropských vod a zejména z údolních nádrží chybí, pouze Wajdowicz (1965) se zmiňuje o 9 štikách (139-344g) chycených se značkou převážně nedaleko místa vypuštění (Vostradovský 1969).

Aktivita štiky je největší ráno a navečer. V noci prakticky neloví, neboť patří mezi ryby s denní aktivitou. Kořisti se zmocňuje "skokem" z klidové polohy, prakticky jí nepronásleduje na větší vzdálenost. Štika se přizpůsobuje okolí i svým zbarvením (pruhování, tónování barev). Větší štiky se zdržují většinou v hlubší vodě dále od břehu.

2.3.6 Věk a růst

Štika jako druh patří v našich podmínkách mezi skupinu středněvěkých ryb, v průměru se dožívá 6-10 roků. Z dosavadních málo početných poznatků o věku větších exemplářů štiky je možno u nás za maximální věkovou hranici tohoto druhu považovat 20-25 roků. Nejvyšší uváděný věk, který je založen na seriozních je okolo 10 roků (ÚN Orava - 10+, ÚN Klíčava - 10+, ÚN Husinec - 9+, ÚN Kníničky - 10+).

V důsledku toho, že štika poměrně rychle roste, dosahuje i značných velikostí. Největší známá štika u nás byla ulovena v Dunaji v oblasti Komárna, měla mít hmotnost 47kg, ale odhadovaný věk 40-50 roků je vzhledem k současným poznatkům možno považovat za nereálný. Známá Tejčkova štika podle nalezených zbytků vážila nejméně 30kg a její věk byl podle otolitů určen na 27 roků (Dyk 1956). V řece Nitře byla v roce 1976 ulovena štika o

hmotnosti 24kg. Z ÚN Lipno známé zejména z počátku její existence bohatými úlovky štiky, pochází úlovek o celkové délce 131cm a hmotnosti 20.85kg, z roku 1980 je hlášen další rekordní úlovek o celkové délce 138cm a hmotnosti 25.40kg. Na ÚN Vranov byla v roce 1969 ulovena štika o hmotnosti 22.5kg. Na téže nádrži byla v roce 1971 ulovena štika (samec) o celkové délce 135cm a hmotnosti 18kg. Z ÚN Kníničky pochází úlovek štiky (samice) o celkové délce 138cm, hmotnosti 17.2kg a stáří 10+. V nádrži Husinec byla v roce 1980 ulovena štika o celkové délce 123cm, hmotnosti 16.5kg a stáří 9+. Mezi délkou těla (SL) a celkovou délkou ryby (TL) platí podle Vostradovského (1970) následující vztahy : TL=1.142xSL, SL=0.876xTL.

Nejrychlejší růst do délky byl zjištěn u štiky především v údolních nádržích jako např. Lipno, Orava, Želivka aj. Nejpomalejší růst byl zaznamenán v zavodňovacích kanálech na Slovensku, kde ve věku 4 roků dosahovala štika v průměru 268mm délky těla. Obecně platí, že samice štiky rostou rychleji než samci a dožívají se i vyššího věku. U štiky je velká variabilita růstu, která je dána jednak specifickými růstovými schopnostmi každého jedince a dále i stanovištností štiky štiky a tam se nacházejícím množstvím potravy. Růstovou variabilitu štiky můžeme nejlépe dokumentovat na příkladu : v ÚN Lipno kolísala délka těla samic štiky ve stáří dvou let od 210 do 567cm, ve stáří čtyř let to bylo 474 až 821mm délky těla, atd. Hmotnostní růst štiky je v relaci s délkovým růstem a vztah lze vyjádřit charakteristickou křivkou délkohmotnostního vztahu. Podle Olivy a Vostradovského (1962) byly u značkovaných jedinců na Lipně prokazatelně zjištěny přírůstky hmotnosti více než 1kg za rok, u jednoho jedince to bylo 1.76kg za 168 dní. Za příznivých podmínek je u štiky reálný hmotnostní přírůstek 1-2 kg za rok. Hmotnostní růst u štiky s věkem se zvyšuje, zatímco intensita délkového růstu se snižuje (Lusk et Krčál 1982).

Tab.1. Růst štiky obecné (mm), různé lokality v ČR a SR (Baruš et Oliva 1995)

lokalita	autor	ks	l_1	l_2	l_3	l_4	l_5	l_6	l_7	l_8	l_9	l_{10}
ÚN Lipno	Vostradovský (1961)	270	163	252	326	415	488	494				
Střední Polabí	Poupě (1974)	112	169	319	450	579	670	790				
ÚN Klíčava, samci	Holčík (1964)	100	177	271	373	480	557	616	647	698	970	980
Jezero Lion (Dunaj)	Sedlár (1971)	90	177	292	389	464	549	730				
Tůně u Čelákovic	Johal (1980)	228	177	292	429	498	612	727				
ÚN Lipno (1959-1967)	Vostradovský (1968)	3226	249	382	469	565	679	741	926			
UN Lipno,samci (1960-1967)	Vostradovský (1977)	1343	259	390	471	530	598	635				
ÚN Lipno,samice (1960-1967)	Vostradovský (1977)	1092	279	411	516	618	721	830	912			
ÚN Hubenov, samci	Vostradovský (1981)		244	361	411	530						
ÚN Jesenice	Vostradovský (1965)	118	204	327	489							
Berounka	Tandon et Oliva (1978)	40	210	300	380	460	540	590	670	750		
Labe	Tandon et Oliva (1978)	40	210	240	320	370	480	620	690	730	780	820
Vltava	Tandon et Oliva (1978)	30	230	310	370	450	520	570				
Oravská nádrž	Balon (1965)	187	232	340	424	475	590	681	756	757	852	879
ÚN Slapy	Čihař (1961)	15	273	391	515	750	790					

2.3.7 Potrava

Štika je označována za typického představitele sladkovodních dravých ryb. Dříve byla dokonce považována za škůdce snižujícího početnost ostatních ušlechtilých druhů ryb, a proto byla pronásledována. Frič (1859) píše : "Přílišnou, až hnusnou žravostí puzena zachvacuje všelikého druhu ryby, vodní myši, žáby, hady, a užírá i mrtvá těla lidí nebo zvířat ve vodě hnijících." (!?) Podobné nesprávné názory dlouho přežívaly ve vědomí naší veřejnosti. Kriticky je rozebírají Lusk et Krčál (1982), u nás je vyvrátil Blažka (1962). Podle výpočtů Blažky (1962), spotřebuje štika na jeden kilogram své tělesné hmotnosti v průměru za rok 4-6kg ryb. Tento tzv. potravní koeficient podle různých zahraničních autorů (Backiel 1971) kolísá u štiky v průměru v rozmezí 3-8kg s tím, že u mladších jedinců je nižší (3-4kg) a u starších a větších jedinců je vyšší (6-7kg).

Plůdek štiky se především živí zooplanktonem, později larvami a drobným vodním hmyzem. Od délky 5-10cm se začíná živit i dravým způsobem. Podle Busse (1961) se v jezerech Walesu štiky během měsíce května živily až do hmotnosti 8kg blešivci *Gammarus pulex*. Bezobratlými a jinými nerybími organismy se však živí jen v případě, že chybí menší velikosti ryb. Potravou plůdku štiky se u nás zabývali Štědroňský (1953), Čihař (1956) a Smíšek (1966), kteří zjistili, že příjem potravy začíná v době, kdy ještě není celý žloutkový váček stráven (obvykle od 11mm délky). Plůdek 20-40mm velký dovede v jednom dni skonzumovat 300-400 nauplií, tj. 30-40% vlastní hmotnosti. Později s oblibou konzumuje

velké perloočky. U 24% zkoumaných jedinců byl obsah zažívadel vždy provázen výskytem plůdku ryb, především okouna říčního, který se již od července hojně v pobřeží vyskytuje (Vostradovský 1971). Od délky 200mm již měly všechny štiky z Lipna v potravě výhradně ryby. Tam, kde se vyskytují (vedle ostatních druhů ryb) okoun s ploticí, tvoří tyto druhy vždy nejvýznamnější podíl potravy. Ve srovnání s jinými dravými druhy ryb má štiky daleko širší potravní spektrum (Vostradovský 1975). Podle výsledků z Lipna se kanibalismus projevil u 3% zjišťovaných jedinců (500mm dlouhou štiku pozřela štika 1100mm).

S rostoucí délkou štiky se snižuje počet druhů a jednotlivých ryb v jednom žaludku, ale roste délka kořisti. Největší štiky mohou požírat také hospodářsky významné druhy ryb. V Lipně tvořil kapr v průměru 6% všech pozřených ryb, jeho množství a význam stoupal v období vysazování a v zimě. Roční spotřeba potravy štiky z Lipna činila z 1ha vodní plochy v průměru za deset let 28-42kg, z toho podíl okouna a plotice 12-19kg. V letech 1958-1967 zde štiky spotřebovaly 1100-1700t ryb, což se za stejné období nepodařilo vylovit sítěmi a udicí dohromady. Nejširší potravní spektrum zde měly štiky v létě, nejužší v zimě. V letním období byl také vyšší podíl ryb méně hodnotných (plotice, okoun, cejn velký), v zimě hospodářsky významných (kapr). Koeficient naplnění zažívadel dosahoval nejvyšších hodnot po výtěru (2,03) a koncem léta (2,29), nejnižší hodnoty byly naopak zjištěny v zimních měsících (0,17). Většina ryb je pozřena vždy od hlavy, od ocasu jen necelé 3% (Baruš et Oliva 1995).

2.3.8 Rozmnožování

Rozmnožování umožňuje udržení druhu v prostředí, které osídlil, případně i další rozšiřování druhu. Z praktického hlediska patří rozmnožování k základním problémům chovu a obhospodařování druhu štiky v našich vodách, protože přirozené rozmnožování je silně potlačeno podmínkami prostředí.

Přirozené rozmnožování štiky se odbývá v časném jaru. Podle Dyka (1946) vyhledává štika nejraději travnaté, zvýšenou jarní vodou zatopené luční okraje. Nerozhoduje přitom, zda jde o řeku či údolní nádrž. S oblibou vždy vyplouvá do nejmělčích, 15 až 30cm hlubokých a travou bohatě zarostlých míst v pobřeží. Přirozené rozmnožování se proto u štiky uplatňuje zejména v nových nádržích, kde v prvních letech má tento druh optimální podmínky pro výtěr (zatopené travní porosty).V předjaří dovede vyplouvat vysoko proti proudu do pstruhových vod.

Tře se záhy zjara, obvykle v březnu, v nížinách byl zaznamenán výtěr i v únoru, po zvláště studených zimách naopak až koncem dubna, kdy teplota vody dosáhla 7-9°C (Breder

et Rosen 1966). Obvykle však tření začíná v březnu a končí během dubna při teplotách od 1,5-9,0°C (Souchon, 1983). Lusk a Krčál (1982) uvádějí, že lze počítat se třením štik, když teplota vody dosahuje 7-8°C. Při slunečných dnech teplota vody na mělčinách vystupuje na 10-12°C. Tření štiky končí v době, kdy teplota vody trvale dosáhne hodnoty okolo 14°C. Jak uvádí Krupauer (1965), štiky se vytírají v ÚN Lipno v měsíci dubnu, a to v době, kdy teplota vody dosáhne 8-9°C. Výtěrové období (začátek i délka) je značně ovlivněno atmosférickými podmínkami, hlavně průběhem a kolísáním teploty a větrem. Dle Krupauera (1965) se výtěrové období kryje s dobou rozmnožování ropuchy zelené (*Bufo viridis*) nebo se začátkem doby kvetení sasanek (*Anemone nemorosa*) a podbělu (*Tussilago farfara*).

Štika patří mezi druhy fytofilní, to znamená, že své jikry vytírá na ponořené rostliny. Jikry jsou lepkavé a na rostlinný podklad se pevně přilepují. Embrya ani larvy nejsou světloplaché (Baruš et Oliva 1995).

Přirozené rozmnožování štiky je ohrožováno nízkými hladinami, nedostatkem vhodného substrátu i kolísáním hladiny, zejména v údolních nádržích.

2.3.8.1 Anatomie pohlavních orgánů

Pohlavní žlázy jsou párové, zavěšené na pobřišnicových řasách v dutině břišní podél zevního okraje ledviny. V době svého největšího rozvoje zaplňují podstatnou část břišní dutiny. U samců se označují jako *testes* (varlata), u samic *ovaria* (vaječníky) (Baruš et Oliva 1995).

Varlata jsou stavěny jako hroznovitě uspořádané (acinozní) žlázy. Zárodečné buňky tvoří zprvu pruhy, v nichž opakovaným dělením vznikají kulovité shluky buněk. Mezi jednotlivé shluky proniká pojivo, které je vzájemně odděluje. Uvnitř do délky se protahujících váčků se vzniká dutina, obklopená několika vrstvami spermatogonií. Vzájemné spojení trubiček a váčků s odvodným vývodem (*ductus deferens*) se děje až v dospělosti (Baruš et Oliva 1995). Je to tzv. lobulární typ varlat (Linhart 2004).

Dozrálá varlata jsou bělavě zbarvená, protažená do délky a na průřezu trojhranná. Uvnitř varlete je centrální kanálek s postranními kanálky nebo váčky, kde vznikají spermatogonie a z nich postupně spermie. Topografii orgánů zadní části tělní dutiny samce štiky obecné popsal již Goodrich (1909).

Ovaria se zakládají párovitě, ale v dospělosti je u nich asymetrie dosti častá. Vnitřní prostor vaječníků je druhotně zvětšen přepažujícími lištami, postavenými příčně. Vejcovody jsou tvořeny srůstem peritoneální řasy obalující ovarium, která takto vytvoří peritoneální trubici.

JIHOČESKÉ U... V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH AKADEMICKÁ KNIHOVNA

Vyústění pohlavních vývodů navenek je na povrchu těla za řitním otvorem, kde ústí močové a pohlavní cesty do společného močopohlavního vývodu (*sinus urogenitalis*) (Baruš et Oliva 1995).

Asymetrii dokumentuje i pozorování Kouřila et Hamáčkové (1975), viz tab.2.

Tab.2. Asymetrie velikosti gonád jikernaček štiky (Kouřil et Hamáčková 1975).

Věk	Stav gonád	počet ryb	Větší gonáda (% případů)		Úhrnná hmotnost gonád (% podíl celkové hmotnosti)	
			levá	pravá	levá	pravá
	juvenilní	19	78,9	21,1	52,93	47,07
1	adultní	9	88,9	11,1	52,38	47,62
2	adultní	24	62,5	37,5	51,33	48,67
3	adultní	8	75,0	25,0	52,14	47,86

2.3.8.2 Pohlavní dospělost

Pohlavní dospívání je určováno zeměpisnou polohou lokality. Ve Španělsku, kde byla štika aklimatizována, dospívají samci i samice velice časně, z velké části již koncem prvního roku života (mezi 31-45cm), jak uvádějí Calderon et Andreau (1955). Kouřil et Hamáčková (1975) zjistili na materiálu z vodňanských rybníků, že samci ve 100% případů dospěli v 1. roce života a samice ve 32%. Lusk et Krčál (1982) uvádějí, že v údolní nádrži Opatovice v letech 1976 až 1977 byli jednoletí samci z 95% a jednoleté samice ze 75% pohlavně dospělí. Nejmenší jednoletá pohlavně dospělá samice měřila 142mm a samec 110mm celkové délky. V ÚN Mušov v prvním období po napuštění dosahovali ročci štiky 250-500mm délky těla a hmotnosti 230-600g, přičemž 95% jedinců bylo pohlavně dospělých (Lusk 1984).

Je zřejmé, že i v našich středoevropských podmínkách se lze setkat s jednoletými pohlavně dospělými rybami, spíše však se samci než samicemi. Nejčastěji však pohlavně dospívají na konci druhého, ale i třetího roku života. Je prokázáno, že rychle rostoucí populace štiky dospívá obvykle v prvém nebo částečně druhém roce života při délce 31-45cm. Na severu, kde je růst pomalejší, dospívají štiky po dosažení 45cm a stáří 4 roků (Baruš, Oliva 1995).

Ve státě Wisconsin (USA) jsou samci zralí ve 2. roce a při délce 37.6-45.7cm. Miller et Kennedy (1948) zaznamenali prvé dospělé ryby ve Velkém Medvědím jezeře až ve věku 5-6 let. Rawson (1932) v Saskatchewanu zaznamenal zralé samice ve třetím a samce ve čtvrtém roku života. V Irsku Healy (1956) nalezl mezi pomalu rostoucími štikami pouze 2% samců dospívajících ve 12 měsících života a 11% samic ve 24% měsících stáří.

Na lokalitách s rychle rostoucími rybami dospěla většina samců v 1.roce a samic ve 2.roce života. Podle údajů z dlouhodobě sledovaného jezera Windermere (Frost et Kipling 1967) je 92% samic zralých ve dvou letech (při průměrné délce 41.5cm), 2.5% při stáří 1+ a 5% při stáří 3+. Oba autoři konstatují, že podmiňujícím faktorem je spíše délka ryb než jejich stáří. Munro (1957) nalezl nejmenšího samce ve tření při délce 26.3cm a nejmenší samici 25.7cm.

2.3.8.3 Poměr pohlaví

Poměr pohlaví podle různých lovných metod studoval Vostradovský (1969) v Lipenské údolní nádrži. Převaha samců nad samicemi byla zjištěna v případě zátahové sítě, vězenců i tenat. V úlovcích udicí naopak mírně převažovaly samice. Souhrnně celý zkoumaný materiál 2465 ryb dokazoval mírnou převahu samců nad samicemi. Také u různě starých ryb poměr pohlaví (samice k samcům) poněkud kolísal, od 1 : 0.33 do 1 : 2.71. Od čtvrté věkové třídy bylo zjištěno značné narůstání početnosti samic a ubývání samců, což souvisí s vyšší úmrtností samců ve vyšších věkových kategoriích. Poměr pohlaví zjišťovaný pomocí různých lovných prostředků je vždy ovlivněn selektivním účinkem lovných metod (do vrší vždy spíše vniknou menší samci než větší samice), ale i vnějšími příčinami, kterými jsou doba lovu a místo lovu. Proto lze u různých autorů nalézt značně rozdílné údaje. Carbine (1942) na trdlištích nalezl více samců než samic, Healy (1956) mezi 3000 rybami 52% samců, Munro (1957) zastihl značnou variabilitu v jednotlivých věkových třídách. Tarnavskij (1967) hodnotí i přes určité výkyvy v jednotlivých letech celkově poměr pohlaví u štiky 1:1.

2.3.8.4 Plodnost (množství jiker a spermií)

Plodnost jikernaček ♀

Počet jiker (absolutní plodnost) značně kolísá, ale má tendenci narůstat s vyšší hmotností a velikostí samic. Tento vztah diskutují a dokumentují Toner et Lawler (1969) z nejrůznějších oblastí severní polokoule. Počet jiker na jeden kg hmotnosti samic je značně variabilní a činil podle předchozích autorů 17919 až 35200 kusů. Absolutní plodnost vzrůstá podle Krupauera et Pekaře (1965) u štik z Lipna s velikostními skupinami ryb. Pro 401-600g činil počet 7877 a pro skupinu 2601-2800g již 63604 jiker. Vyšší hodnoty plodnosti pro štiky shodných velikostních skupin zjistil u exemplářů z rybníků Hochman (1964). Absolutní plodnost stoupala v závislosti na délce ryb od 22663 jiker až do 88775 jiker (ryby o délce 410-640mm). Relativní plodnost se pohybovala v rozmezí 19712-49901 jiker na jeden kg živé

hmotnosti ryb (průměr 28652), bez vztahů k rozměrům ryb. Ve srovnání s údaji o plodnosti štik z řeky Obu, Aralského jezera a střední Volhy jde o množství asi dvojnásobné. Podobné zjištění uvádějí i Kouřil et Hamáčková (1975). Také Healy (1956) uvádí zvyšující se počet jiker s rostoucími rozměry ryb. Pro štiky 30-45cm dlouhé z Aralského jezera uvádí Nikoľskij (1963) v průměru 8287 jiker a pro ryby ze severní části Kaspického moře 17581 jiker. O značných individuálních rozdílech informuje Frost et Kipling (1967), kdy 1.5kg těžké ryby měly 28000 až 42000 a 6.81kg těžké 186000 až 226000. Také Toner et Lawler (1969) uvádějí hodnoty 17919 až 35200 a v přehledu informují o době tření v různých částech areálu rozšíření tohoto druhu, počínaje únorem na Ukrajině, až do začátku června v Dánsku, ve vodě s $8^{o}/_{oo}$ salinity.

Kouřil et Hamáčková (1975) sledovali plodnost u jikernaček štik odebraných od 20. do 24. března 1973 při lovení komorových rybníků VÚRH ve Vodňanech. Studijní materiál sestával z ryb ve věku jednoho, dvou a tří let, původem z přirozených výtěrů v rybnících a po dobu života chovaných v rybnících za normálních podmínek. Jejich výsledky ukazuje tab.3.

Tab.3. Ukazatele plodnosti jikernaček štiky (Kouřil et Hamáčková 1975).

Věk	n	Délka těla (mm)	Hmotnost (g)	Absolutní plodnost (ks)	Relativní plodnost (ks/kg)
		228	75	2505	37579
1	9	211-248	57-100	628-5609	7476-56090
		392	453	12360	27285
2	24	349-436	322-661	4369-29370	13281-77203
		456	724	20669	28548
3	8	361-522	395-1060	6137-34573	15616-37534

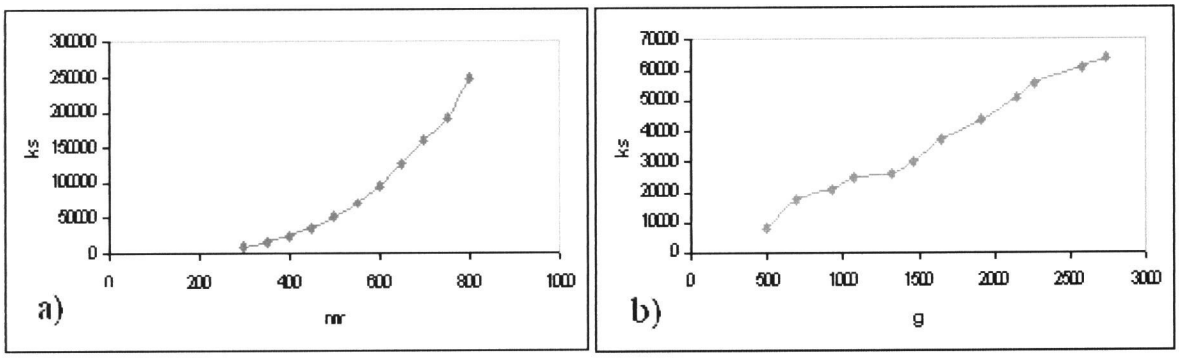
Hochmanovo (1964) výsledky z jihomoravských rybníků jsou v porovnání s ostatními v tab.4 dosti vysoké, ryby pocházely z rybničního prostředí s početnou příměsí plevelných ryb, takže vykazovaly velmi dobrý růst a byly v dobrém tělesném stavu.

Tab.4. Absolutní plodnost štiky v různých vodách (Hochman 1964).

Délka těla l.corp.(mm)	Lokalita					
	Ob *(Efimova)*	**Ob** *(Bašnakova)*	**Volha** *(Kiselevič)*	**Aralské jezero** *(Letičevskij)*	**stř. Volha** *(Lukin-Štejnfeld)*	**Jihom. ryb.** *(Hochman)*
300-350	-	-	-	-	3600	10200
350-400	-	-	16580	8287	-	16500
400-450	13404	-	31244	13209	-	25200
450-500	16806	15500	43733	24644	23100	36900
500-550	23640	19151	59873	26771	23300	52500
550-600	35104	27855	79770	43050	38600	71000
600-650	63997	42815	96049	-	88700	94600
650-700	55684	51194	128773	-	-	127200
700-750	98490	-	151913	-	75100	159500
750-800	-	-	156134	-	-	190800
800-850	-	-	213300	-	140300	248000

Z uvedených zkoumání je patrné, že absolutní plodnost u jikernaček štik stoupá s větší délkou těla ryby a se stářím ryby. Hochman (1964) závislost vynesl do grafu, viz. graf 1a). Stejně tak stoupá absolutní plodnost s váhou ryby, viz graf 1b). dle Krupauer et Pekař (1965).

Graf 1. a) Absolutní plodnost ve vztahu k délce těla (Hochman 1964).
b) Absolutní plodnost ve vztahu k váze těla (Krupauer et Pekař 1965).



Zdají se tedy pravdivé názory Popovové (1960), že plodnost ryb je funkcí ekologických podmínek. Ale nejen odlišné životní prostředí kupř. 2 lokalit, ale i rozdíly v potravních příležitostech, kolísání hladiny, celkový průběh atmosférických podmínek v jednotlivých letech mohou ovlivnit a způsobit diference v plodnosti štik již i ve dvou rocích, následujících po sobě, jak dokumentují Krupauer et Pekař (1965).

Krupauer et Pekař (1965) zkoumali rozložení jiker v jednotlivých částech vaječníků u štik na ÚN Lipno. Zjistili, že hustota jiker v různých partiích jedné a té samé gonády může značně kolísat, a že hustota jiker v pravém a levém vaječníku není stejná, viz. tab. 5.

Tab.5. Průměrná hustota jiker v ks v různé části vaječníku v 1g (Krupauer et Pekař 1965).

poř.č.	Pravá				Levá			
	průměr	kraniální	mediální	kaudální	průměr	kraniální	mediální	kaudální
1	129	128	131	129	128	132	131	122
2	126	135	118	126	135	138	134	135
3	129	128	131	129	128	132	131	122
4	128	127	153	105	96	98	112	77
5	122	131	118	118	123	123	120	128
6	113	119	113	107	109	118	104	104
7	150	153	150	148	146	154	145	140
8	149	149	152	147	155	154	155	157
9	130	133	131	126	134	134	136	132
10	134	132	140	130	130	128	133	129

Plodnost u mlíčáků (objem ejakulátu a množství spermií) ♂

Množství ejakulátu, získané při umělém výtěru štik, je v průměru velmi malé. Maximálně dosahovalo podle Krupauera et Pekaře (1965) 3-4 ml. V průměru je však nižší a

lze je charakterizovat množstvím 1.2-1.6ml. Na začátku výtěrového období je sperma smetanově husté a sněhově bílé barvy. Ke konci výtěrového období je daleko řidší (mléčné hustoty) až vodnaté, pouze mléčně zabarvené. Lindroth (ex Ginsburg 1968) zjistil objem spermatu nižší jak 1ml/ks. Zajímavé výsledky dosáhli Koldras et Moczarski (1983), kteří získali v měsíci květnu vyšší průměrný objem spermatu 2,47ml/ks bez hypofyzace mlíčáků, kdežto v měsíci březnu a dubnu po hypofyzaci mlíčáků kapří hypofýzou (3-4mg/ks) byl zjištěn průměrný objem spermatu 0,54ml/ks. V březnu a dubnu bylo sperma vodnaté, v květnu husté. Mlíčáci byli v období března-dubna chováni ve vodě o teplotě 10°C, část mlíčáků vytíraných v květnu byla v tomto období držena v bazénu (bez uvedení teploty a počtu jedinců). Naproti tomu Horvát et Tamás (1976) a Lévai et Horvát (1980) doporučují hypofyzovat mlíčáky. Lévai et Horvát (1980) použili dávku kapří hypofýzy 15-20mg/kg mlíčáka, přičemž dostatečné množství spermatu získali po dvojí hypofyzaci. Linhart (1984) zjistil nejvyšší průměrný objem spermatu štiky 0,53ml/ks, a to na konci výtěrové sezony u osmi mlíčáků o průměrné hmotnosti 721,0g a nejnižší objem spermatu 0,26ml/ks u šesti mlíčáků o hmotnosti 1293g. Také nejnižší relativní objem spermatu 0,20ml/ks byl zjištěn u nejtěžších jedinců. U jedinců o vyšší hmotnosti byl zjištěn nižší objem spermatu.

Počet spermií kolísá v závislosti na velikosti mlíčáka i v době, kdy obsah spermií byl stanoven. Mlíčí by mělo být odebíráno u všech posuzovaných jedinců ve stejnou dobu (nejlépe před zahájením výtěru). Výsledky může podstatně zkreslit i skutečnost, jestliže je u štik před vlastním výtěrem zjišťována "zralost" (masáží břišní stěny nebo přímo i vytlačováním mlíčí z pohlavního otvoru). Stejná chyba může být způsobena, jsou-li mlíčáci loveni do tenatových sítí, neboť při jejich vyprošťování může dojít rovněž k nechtěnému výtěru. Data u několika mladých jedinců z konce výtěrového období uvádí Krupauer et Pekař (1965) v tab. 6.

Tab.6. Koncentrace spermií u mladých mlíčáků na konci výtěrového období (Krupauer et Pekař 1965).

váha (g)/délka těla (mm)	1040/468	910/462	695/444	640/442	630/412	620/412	530/456	210/308
konc. spermií 10^9/ml	3,52	6,88	7,04	5,65	3,26	5,64	4,52	asperm.

Podle pozorování Krupauera et Pekaře (1965) je zřejmá vyrovnaná plodnost samců až do hmotnosti 1.5kg. Po překročení této hranice se udržuje, přes jisté individuální rozkolísání, na přibližně stejné úrovni až do váhy asi 2.7kg (maximální váha jimi sledovaných štik). Domnívají se, že by se mlíčáci pod 800g tělesné hmotnosti neměli používat k umělým výtěrům z důvodu malé koncentrace spermií v ejakulátu. Jejich výsledky získané z ÚN Lipno shrnuje tab. 7.

Tab.7. Koncentrace spermií mlíčáků z Lipna, Krupauer et Pekař (1965).

Hranice váhových tříd (g)	počet ryb	Průměrná váha (g)	konc. spermií 10^9/ml
401-600	3	528	8,3
601-800	2	707	10,9
801-1000	8	890,6	15,9
1001-1200	6	1128,5	18,06
1201-1400	4	1320,2	19,12
1401-1600	7	1494,4	21,95
1601-1800	2	1701	20,37
1801-2000	1	1895	20,76±4,5
2001-2200	1	2125	20,64±4,2
2601-2800	4	2716,4	23,55

Koncentrace spermií mlíčáků štik z pokusných rybníků VÚRH Vodňany pozorovali Kouřil et Hamáčková (1975) a zjistili značnou variabilitu. Jejich výsledky shrnuje tab. 8.

Tab.8. Koncentrace spermií mlíčáků dle Kouřil et Hamáčková (1975).

Věk	počet ryb	délka těla (mm)	hmotnost (g)	konc. spermií $10^9.ml^{-1}$
1	7	ø 206	ø 69	ø 29,92 (9,52-35,22)
2	24	ø 330	ø 335	ø 17,22 (2,48-42,68)
3	17	ø 389	ø 551	ø 27,47 (17,0-68,26)
Σ	48	149-419	57-703	ø 22,26(2,48-68,26)

Lindroth (ex Ginsburg 1968) uvádí koncentraci spermií u štiky v rozmezí 20,3-23,0.10^9.ml^{-1}. Persov (ex Ginsburg 1968) zjistil u jednoho mlíčáka koncentraci 14,2.10^9/ml. Koncentracemi spermií štiky se zabýval i Linhart (1984), jeho výsledky ukazuje tab.9. Nejvyšší průměrnou koncentraci 21,82.10^9.ml^{-1} zjistil u ryb o průměrné hmotnosti 821,7g a nejnižší koncentrace 13,97.10^9.ml^{-1} u mlíčáků o průměrné hmotnosti 721,3g na konci výtěrové sezony. U hmotnostně těžších jedinců byla zjištěna vyšší koncentrace spermií.

Tab.9. Koncentrace spermií, absolutní a relativní počet spermií mlíčáků štiky, Linhart (1984).

místo šetření, datum	n (ks)	délka těla (mm)	hmotnost (g)	konc. spermií $10^9.ml^{-1}$	absolutní počet spermií $10^6.ks^{-1}$	relativní počet spermií $10^6.kg^{-1}$
Tábor 29.-30.3. 1980	12	426 355-513	744 450-1190	18,9 12,5-26,0	11000 3420-22320	15307 4022-29368
Ostrava 4.4. 1980	6	437,5 400-480	nesledováno	19,73 10,2-23,98	nesledováno	nesledováno
Ostrava 8.4. 1980	6	421 375-480	822 570-1160	21,82 12,1-31,5	10391 3240-25200	14280 5400-36000
Pohořelice 12.4. 1980	6	497 455-540	1293 1030-1550	20,72 16,8-23,4	5563 1900-17600	4155 1462-11503
Tábor 17.4. 1980	8	418 375-463	721 555-906	13,97 8,58-17,03	7038 5152-10598	10137 5687-16144

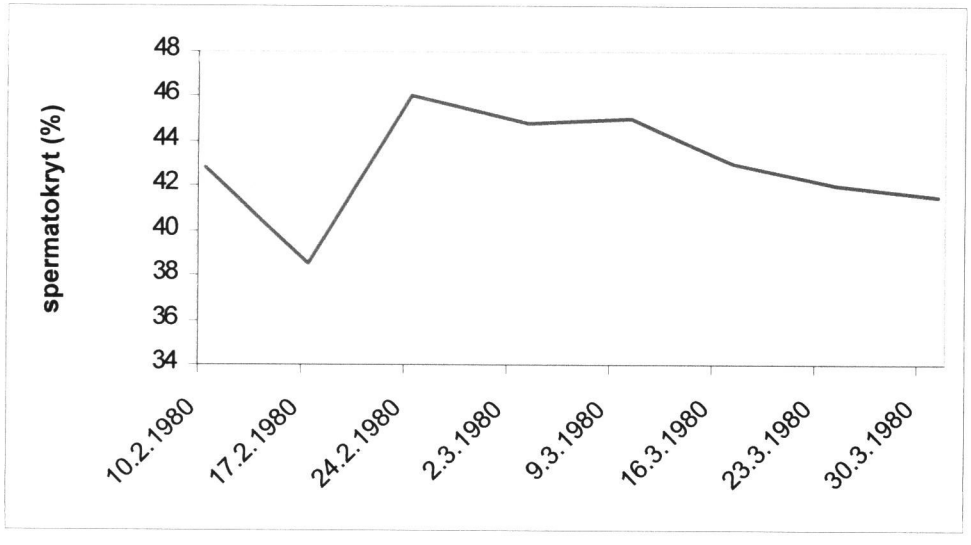
Koncentracemi spermií, hodnotou spermatokrytu a objemem spermatu u 14ti mlíčáků štiky se zabýval Montalembert et al. (1980). Jejich hodnoty jsou v tab. 10.

Tab.10. Hodnoty plodnosti mlíčáků štiky dle Montalembert et al. (1980).

váha (g)	počet odběrů		objem ejakulátu			spermatokryt (%)	konc. spermií $10^9.ml^{-1}$	množství spermií			
			celkem (ml)	ø (ml)				celkem 10^9	$10^9.kg^{-1}$	ø (10^6)	
	+	-		/ ♂	/ kg ♂					/ ♂	/ kg ♂
1225	8	0	11,7	1,468	1,20	42,3±11,0	21,49	251,4	205,22	31,547	25,88
955	8	0	7,5	0,942	0,99	39,4±11,8	20,19	151,42	155,35	19,018	19,99
935	6	2	2,1	0,359	0,38	43,3±4,8	21,94	46,07	49,27	7,876	8,34
480	8	0	2,9	0,360	0,75	44,9±3,9	22,65	65,68	136,83	8,154	16,99
200	8	0	5,7	0,716	3,58	50,1±6,9	24,97	142,33	711,65	17,878	89,39
200	4	4	0,7	0,175	0,87	45,2±6,1	22,78	15,95	79,75	3,986	10,71
150	3	5	0,2	0,070	0,47	40,0±9,9	20,46	4,09	27,27	1,432	9,62
170	5	1	-	0,610	3,59	34,0±10	17,79	-	-	10,852	63,87
100	0	6	-	0	-	-	-			0	
190	3	1	-	0,525	2,76	45,0±11,3	22,69	-	-	11,912	62,62
380	3	0	-	0,483	1,27	48,6±6,6	24,30	-	-	10,959	28,82
800	2	0	-	0,275	0,34	40,0±2,8	20,46	-	-	5,626	6,96
500	2	0	-	0,280	0,56	35,0±7,1	18,24			5,107	10,21
560	1	0	-	0,420	1,75	44,0	22,25			9,345	16,69
ø					**1,35**	**42,4**	**21,55**				**28,47**

Montalembert et al. (1980) zjišťovali též změny v koncentraci spermií v průběhu třecího období u štiky, vyjádřené pomocí hodnot spermatokrytu, viz graf.2. Sledováno bylo deset mlíčáků, jejichž hodnoty se zprůměrovaly. Hodnoty spermatokrytu se pohybovaly v rozmezí 34-50%, což odpovídá koncentraci spermií 18-25.10^9ml. Sledované období bylo od 10. února do 31. března 1980.

Graf.2. Změny v hodnotách spermatokrytu v průběhu třecího období u štiky Montalembert et al. (1980).



2.3.8.5 Biologie spermií a jiker

Biologie spermií ♂

Spermie štiky, ostatně jako všech ostatních druhů ryb, se skládá ze tří hlavních částí - hlavičky, střední, koncové části a má typický bičíkatý tvar. Patří mezi primitivní spermie, tzv. "akva" spermie (Linhart 2004).

Hlavním úkolem *hlavičky* spermií je nosit a přenášet genetický materiál soustředěný v nukleoplasmě. Tvar a velikost hlavičky spermie je velmi důležitý z hlediska proniknutí skrz vaječné obaly, zvláště pak otvorem mikropyle (Ginsburg, 1968). Rozdílné tvary hlaviček se vyvinuly u chrupavčitých a kostnatých ryb s vnějším oplozením (Linhart et al. 1991). Pravidelná kulovitá hlavička je u štiky (Esox lucius) (Mattei, 1972; Rötheli et al., 1950). Hlavička spermie má vzhledem k celkové délce spermie jen zanedbatelnou velikost. Rötheli et al. uvádí délku hlavičky 2,0μm a šířku také 2,0μm vzhledem k celkové délce spermie 37-42μm. Billard (1969) uvádí délku hlavičky 2,0μ a šířku 1,8μm. Podle Billarda (1969) a Drozdova (1981) se chromatin vyskytuje u štiky v podobě velkých granulí. Hlavička obsahuje jádro s nukleoplasmou, jadernou membránou a cytoplasmatickou membránou. Jádro sestává z chromatinu, v němž je obsažena DNA s haploidní sadou chromosomů (Linhart 1991).

Střední část spermie je redukovaná a napevno spojená s hlavičkou. Obsahuje distální a proximální centriolu a mitochondrie (Linhart 2004). Postavení distální a proximální centrioly popisuje (Linhart 2004) nebo Billard (1969). Centrioly mají za úkol upevňovat bičík, který prochází skrz mitochondriální část (Ginsburg 1968). Střední část se jeví být asymetrická, takže bičík nikdy neprochází jejím středem (André 1982).

Bičík spermií lze rozdělit na proximální, centrální a koncovou část. U štiky lze pak zvláště rozpoznat jen proximální část (Ginsburg 1968; Billard 1969; Mattei 1969). Bičík sám o sobě se skládá ze dvou centrálních a devíti periferních tubulů ("9+2 komplex") (Mattei 1972) obklopených membránou. Dva centrální tubuly jsou jednoduché, periferních devět vždy dvojité. Centrální tubuly jsou obaleny centrální pochvou. Mezi periferními tubuly se nacházejí tzv. Dyneinova ramena a mezi centrálními a periferními tzv. radiální spojky. Dyneinová ramena a radiální spojky obsahují ATPasu regulovanou Ca^{2+} ionty jako hlavní motory bičíku (Linhart 2004). Základní princip pohybu bičíku je založen na střídání klouzání a fixace tubulů. Dyneinová ramena zabezpečují ohyb tubulů, jehož výsledkem je hadovitý pohyb. Radiální spojky koordinují na principu hvězdicovitého motoru postupné spouštění ohybu periferních tubulů, jehož výsledkem je třírozměrný rotační pohyb (Linhart 2004). Výsledkem posunu tubulů s koordinací přes střední tubuly je rotující spermie, tzn. bičík a hlavička s

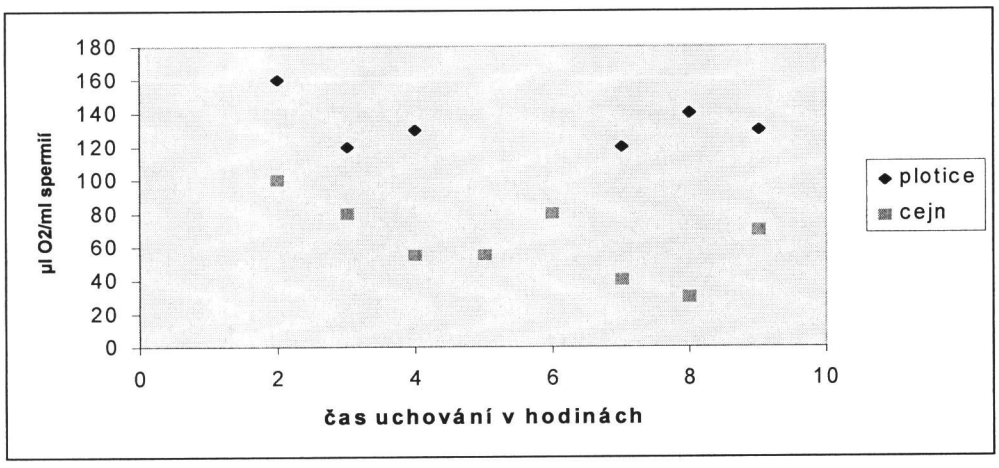
amplitudami ohybu bičíku a posunem hlavičky spermie. Je to vlastně princip vývrtky. Při rozdělení bičíku spermie na několik částí je každá část bičíku se schopna samostatně pohybovat (Linhart 2004). Zásadní rozdíl mezi pohybem bičíku u spermií a bakterií je v tom, že u bakterií je bičík otáčen z bazální části bakterie a funguje vlastně na principu lodního šroubu.

Bičík u štiky obsahuje tzv. periferní "třásně" (Jasper et al. 1976; Lowman 1953; Billard 1969). Ty jsou vlastně jako vychlípeniny cytoplasmatické membrány, široké 1μm a silné 0,07μm (Rőtheli et al. 1950; Ginsburg 1968). Velice rychle se rozpadají ve vodním prostředí. U štiky tento rozpad nastává do 4 minut (Ginsburg 1968).

V anaerobních podmínkách je konečným produktem glykolýzy kyselina mléčná. Standardní hodnoty této kyseliny se pohybují u cejna asi 22,3mg% a plotice asi 25,5mg% (Zhukinski et Gosh 1974). Za anaerobních podmínek se kyselina mléčná začne hromadit, hodnota pH rychle klesá, integrita membrány je porušena úbytkem strukturálních lipidů a proteinů. Do spermií se dostává voda ze semenné plasmy, což má za následek jejich zničení (Belova 1982).

Úroveň spotřeby kyslíku u rybích spermií sledoval Zhukinskij et Gosh (1974). Jejich hodnoty zjištěné u plotice a cejna ukazuje graf.3. U pstruha duhového byla zjištěna spotřeba 20-40μl O_2/ml spermií (Terner 1962). Po aktivaci spermií vodou dojde k náhlému vzrůstu spotřeby kyslíku u plotice asi 2,5x (na ±400μl O_2/ml spermií). U kapra se spotřeba kyslíku u aktivovaných spermií pohybuje okolo 180μl O_2/ml spermií (Gosh 1985). Burnashova (1960) zjistila, že u jesetera hvězdnatého se po aktivaci spotřeba kyslíku asi zdvoj- až ztrojnásobí. Spotřeba kyslíku roste též s přidáním pyruvátu, laktátu, malátu sukcinátu a α-ketuglutarátu (Linhart 1991).

Graf.3. Spotřeba kyslíku neaktivovaných spermií cejna a plotice, Zhukinskij et Gosh (1974).



Biologie jiker ♀

Velikost jiker z různě velkých štik a z různého prostředí se pohybovala mezi 2,3-3,0mm (Toner et Lawler 1969). Podle Linharta (2004) je průměrná velikost jiker před oplozením 2mm a po nabobtnání 2,5-3mm. Jikry jsou silně lepivé. Lusk et Krčál (1982) uvádějí velikost jiker v rozmezí 2,0-2,8mm. Hmotnosti 1g dosahuje asi 150-400 jiker.

Podle Lindrotha (1947) se mikropyle jikry uzavírá do 0,5-1min po vypuzení jikry do vodního prostředí (během této doby musí nastat oplození), ale i po 120s se najdou jikry možné k oplození.

2.3.8.6 Semenná plasma

Na chemickém složení semenné plasmy a spermií zatím probíhalo jen málo výzkumů, a to zejména u kaprovitých a lososovitých ryb. Data u některých druhů ryb shrnuje tab.11. Jsou např. jasně zřetelné rozdíly mezi koncentracemi iontů Na^+, K^+ a Mg^{2+}, Ca^{2+} mezi kaprem a lososem (Linhart et al. 1991).

Tab.11. Koncentrace iontů v semenné plasmě a spermií u ryb ($mmol.l^{-1}$) (Linhart et al. 1991).

	druh ryby	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	autor
Semenná plasma	Oncorhynchus mykiss	104	25,3	1,1	1,4	135	Holtz et al. (1979)
		107	25,8	0,8	2,6	-	Holtz et al. (1977)
		133	20	-	-	130	Schlenk et Hahmann (1938)
	Salmo salar	103	22	0,9	1,3	-	Hwang et Idler (1969)
	Cyprinus carpio	94	67,8	0,02	12,5	-	Clemes et Grant (1965)
	Vimba Vimba	107	38,7	1,2	0,3	-	Kucherova (1972)
	Tinca tinca	18,4	1,9	0,5	0,6	-	Linhart et al. (2003)
	Ctenopharyngodon idella	811	35,1	1,6	1,0	-	Gosh (1985)
	Stizostedion vitreum	167	24,8	2,0	0,4	132	Gregory (1970)
Spermie	Salmo salar	36,5	76,2	0,8	0,03	-	Hwang et Idler (1969)
	Gadus morhua	77,4	60,6	0,2	0,4	-	Hwang et Idler (1969)
	Ctenopharyngodon idella	35,7	2,1	1,3	2,6	-	Gosh (1985)

Změny v koncentraci iontů semenné plasmy u pstruha duhového v závislosti na čase popsali Munkittrick et Moccia (1987), viz tab.12. U některých druhů ryb můžou pravděpodobně koncentrace iontů klesnout na tak nízkou úroveň, že by mohly být spermie aktivní i bez aktivace vodou (Linhart 1991).

Tab.12. Koncentrace iontů a celková osmolalita u pstruha duhového (Munkittrick et Moccia 1987).

čas od zač. spermiace	Na^+ $mmol.l^{-1}$	K^+ $mmol.l^{-1}$	Cl^- $mmol.l^{-1}$	osmolalita $mmol.kg^{-1}$
1-3 měsíce	91,9-54	18,8-12,4	86,3-53,7	210,3-138,1
2-4 měsíce	63,1-42,8	14,2-9,4	65-39,6	159,1-79,4
3-5 měsíců	44,3-37,4	9,8-7,4	48,1-35	120,9-106,4

Osmolalita semenné plasmy u lína (*Tinca* tinca) je asi 230±82mosmol.kg^{-1} (Linhart et al. 2003). V semenné plasmě jsou přítomny metabolity glykolýzy a Krebsova cyklu. Množství metabolitů zkoumané u kaprovitých ryb bylo velmi proměnlivé v závislosti na délce uschování spermatu (Gosh 1985). Po 24h uschování spermatu u kapra se zvýšilo množství laktátu, pyruvátu a α-ketoglutarátu, naopak kleslo množství malátu a isocitrátu. Koncentrace proteinů a lipidů v semenné plasmě kaprovitých ryb po a bez hormonálního ošetření zkoumala Belova (1982). V tab.13 jsou shrnuty některé poznatky o organickém složení semenné plasmy podle různých autorů, (Billard et Cosson 1990). Srovnání je velmi těžké, vzhledem k různým použitým metodám u různých autorů.

Tab.13. Organické složení semenné plasmy (Billard et Cosson 1990).

látka	obsah (mg.l^{-1})	druh ryby	autor
glukosa	9-100	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	20-220	Oncorhynchus mykiss	Piironnen et Hyvarinen (1983)
fruktosa	58-63	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	0-9	Oncorhynchus mykiss	Piironnen et Hyvarinen (1983)
	78	Oncorhynchus mykiss	Holtz et al. (1979)
	0-12	Perca fluviatilis	Piironnen et Hyvarinen (1983)
	20-79	Lota lota	Piironnen et Hyvarinen (1983)
laktát	3,9-50	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	20	Oncorhynchus mykiss	Holtz et al. (1979)
cholesterol	0-40	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
lipidy	98-1316	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	34-374	Oncorhynchus mykiss	Piironnen et Hyvarinen (1983)
fosfolipidy	5,6	Cyprinus carpio	Ploudy et Billard (1983)
bílkoviny	1200	Cyprinus carpio	Ploudy et Billard (1983)
	0,4-40	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	800-1900	Oncorhynchus mykiss	Sanchez-Rodrigues et al. (1978)
	700-2800	Oncorhynchus mykiss	Maisse et al. (1988)
	125	Oncorhynchus mykiss	Cruea (1969)
aminokyseliny	98-136	Cyprinus carpio	Kruger et al. (1984)
	84	Oncorhynchus mykiss	Boafonte (1977-78)

Kvůli míře metabolické aktivity spermií u kaprovitých ryb byly sledovány koncentrace koenzymů po krátkém uchování (24h) spermatu v teplotě 4-5°C. Výsledky ukazuje tab.14. a 15. (Gosh 1985). Snížila se koncentrace NAD a NADP, naopak se zvýšila koncentrace NADH a NADPH, což souvisí s průběhem glykolýzy (Francis et Miller 1972). Ze semenné plasmy byla isolována fosfatáza, LDH a MDH, acetyl- a butyryl-esterázy, alanyl- a leucyl-aminopeptidázy a glukosaminázy (Breton et al. 1974).

Tab.14. Koncentrace NAD(P)/NAD(P)H v semenné plasmě kapra po 24h uchování v teplotě 4-5°C, (Gosh 1985) v $nmol.l^{-1}$.

doba uchování	NAD^+	NADH	NAD^+/NADH	$NADP^+$	NADPH	$NADP^+$/NADPH
0h	639	20	31	27	40	0,68
24h	545	38	14,3	11	53	0,21

Tab.15. Koncentrace NAD(P)/NAD(P)H ve spermiích kapra po 24h uchování v teplotě 4-5°C, (Gosh 1985) v $nmol.l^{-1}$.

doba uchování	NAD^+	NADH	NAD^+/NADH	$NADP^+$	NADPH	$NADP^+$/NADPH
0h	28,6	1,4	20,4	1,4	2	0,71
24h	29,8	6,2	4,8	1,1	6	0,18

2.3.8.7 Pohyblivost spermií

Pohyblivost spermií u štiky zkoumal Linhart (1984a) a posuzoval ji dle metodiky uvedené Linhartem (1984b). Průměrné doby pohybu spermií ve fázi postupného pohybu hromadného činily 28-33s a celková doba pohybu spermií činila 66-80s. Nejdelší pohyblivost ve fázi postupného pohybu hromadného, která představuje nejpravděpodobnější dobu oplození nejvyššího relativního počtu jiker, byla 33s při teplotě oplozovacího roztoku 10-13°C a nejkratší 28s při teplotě oplozovacího roztoku 14-16°C. Zjištěný podíl pohybujících se spermií 63% byl nejnižší u nejtěžších jedinců na konci výtěrové sezony. Jeho výsledky jsou v tab.16.

Zjištěná celková doba pohybu spermií štiky je delší než uvádí Billard (1978) (0,5-1min) a kratší než uvádí Dyk (1940) (1 hodina). Výsledek Dyka (1940) byl zřejmě zkreslen malým naředěním spermatu oplozovacím roztokem. Montalembert et al. (1980) pozorovali vyšší intenzitu pohybu spermií před ovulací jikernaček. Koldras et Moczarski (1983) uvádí dobu pohybu spermií štiky ve fázi progresivního pohybu (analogické fázi postupného pohybu hromadného) 23s. Jako oplozovací roztok použili destilovanou vodu. Uvedený výsledek je srovnatelný s výsledky Linharta (1984), protože destilovaná voda zkracuje dobu pohybu spermií oproti sladké vodě (destilovaná voda má nižší iontovou sílu, nevhodné pH a nízký osmotický tlak). Lindroth (1947) uvádí dobu pohybu spermií 80-90s při teplotách 11-13°C.

Tab.16. Pohyblivost spermií štiky dle Linharta (1984).

místo šetření	n (ks)	pohyblivost spermií		
		postupný pohyb spermií (s)	konec pohybu (s)	rel. počet pohyb. se spermií ve fázi postupného pohybu hromadného (%)
Tábor, březen	19	33 (12-44)	75 (48-92)	83 (20-100)
Ostrava, duben	6	30 (25-34)	80 (75-90)	76 (60-80)
Ostrava, duben	6	30 (15-36)	76 (55-82)	77 (40-100)
Pohořelice, duben	6	28 (0-42)	66 (35-82)	63 (20-90)

V testis jsou spermie nepohyblivé a u mnoha druhů též v semenné plasmě. Okolní faktory, jako jsou ionty, pH nebo osmolalita, mohou způsobit depolarizaci buněčné membrány spermií a stimulovat pohyb spermií (Linhart 1991). Už Scheuring (1925) zjistil, že ionty Na^+, Mg^{2+} and Ca^{2+} snižují inhibiční účinek K^+ s tím, že bivalentní kationty jsou účinnější. Schlenk et Kahman (1938) sledovali motilitu spermií v prostředí Na^+ a K^+. Někteří autoři se domnívají, že inhibice pohybu spermií s milimolárními koncentracemi K^+ je překryta účinkem vzrůstu Ca^{2+} z vnějšího prostředí (Bayens et al. 1981; Cosson et al. 1986; Tanimoto et Morisawa 1988). Gatti et al. (1990) uvádí, že v roztoku s vysokou koncentrací K^+ a nízkým pH dojde při zvýšení externí koncentrace Ca^{2+} k překrytí inhibičního účinku H^+ a K^+ na motilitu spermií.

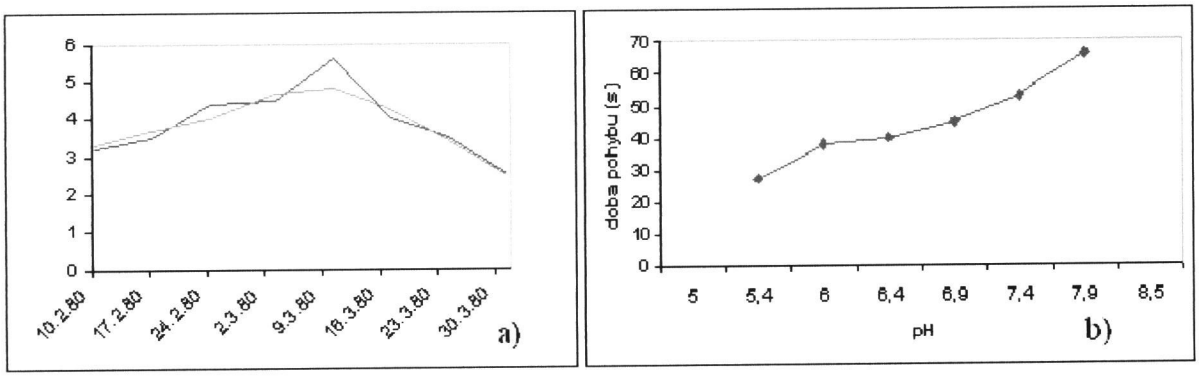
Systém mikrotubulů v bičíku representuje pohybový aparát spermií. Každý z periferních dvojtubulů nese dvě ramena obsahující ATPasu, nazývanou dynein. ATPasa u spermií okouna byla aktivována jak $MgCl_2$, tak $CaCl_2$ a může být snadno extrahována (Tibbs 1959). Energie ve formě ATP potřebná pro pohyb spermií pochází z glykolýzy a oxydačních reakcí. Množstvím ATP ve spermiích se zabývali např. (Felix et al. 1956; Tibbs 1962; Burnashova 1960; Mohri 1964; Christien et al. 1987). Burnashova (1960) zkoumala změnu ATP u aktivovaných spermií jeseterů. Před aktivací byla hladina ATP 36mg.ml^{-1} s respirací 17µl O_2/ml spermií. Během 1-2 minut po aktivaci vodou vzrostlo množství ATP na 104mg.ml^{-1} a respirace na 37µl O_2/ml spermií. Po 5-10 minutách pohyb značně ustal a hladina ATP se vrátila na původní hodnoty. Burnashova (1960, 1982) uvádí, že po inhibici glykolýzy či oxidačních procesů u spermií ryb nastává snížení hladiny ATP a pohyb je pomalejší.

Průběh ve vývoji doby pohybu spermií štiky ve výtěrovém období sledoval od 10.února do 31.března Montalembert et al. (1980). Hodnocena byla též intensita pohybu v 5ti dílné stupnici (Jaspers 1972; Emmens 1947). Spermie byly ředěny fyziologickým roztokem podle Billarda (1978). Výsledky viz graf.4a.

Pohyblivost štičích spermií v závislosti na hodnotách pH na dvou mlíčácích (633mm, 635mmm) zkoumal Duplinsky (1982). Byl zaznamanán úbytek rybích populací v důsledku kyselých dešťů v Norsku, Švédsku, Kanadě aj. (Schofield 1976). Jako hlavní důvod tohoto úbytku je nedostatek rybího plůdku z přirozeného rozmnožování (Beamish et al. 1975). Velmi citlivé k nízkým hodnotám pH jsou jak jikry, tak spermie a i nově vykulený plůdek (Gray 1920). Duplinsky (1982) používal ke svým pokusům vodu o složení : 18mg.l^{-1} Ca, 25mg.l^{-1} K, 13,8mg.l^{-1} Na, 37mg.l^{-1} Cl, pH 6,6 a hodnotu pH měnil pomocí NaOH a H_2SO_4. Teplota vody byla 10-13°C a hodnoty pH postupně pH 3.3, 4.5, 5.4, 6.0, 6.4, 6.9, 7.4, 7.9. Výsledky

Duplinského (1982) ukazuje graf.4b. Nejdelší doba pohybu byla 67s při pH 7.9. Pod pH 5.4 nebyl pohyb vůbec zaznamenán.

Graf.4. a) Průběh ve vývoji doby pohybu spermií (min.) štiky po ředění fyziol. roztokem a intensita jejich pohybu hodnocená 5ti dílnou stupnicí, modrá - motilita (min), fialová - intensita pohybu (Montalembert et al. 1980).
b) Doba pohybu (s) spermií štiky ve vodě v závislosti na pH (Duplinsky 1982).



2.3.8.8 Složení moči a její vliv na pohyblivost spermií

Složení moči u lína (*Tinca tinca*) zkoumal Linhart et al. (2003). Její osmolalita se pohybovala kolem 85±58mosmol.kg^{-1} a obsahovala vysoké koncentrace iontů : 30.9mM Na^+, 4.3mM K^+, 0.9mM Ca^{2+} a 0.6mM Mg^{2+}. Během umělé reprodukce lína (Linhart et Billard 1995) dochází ke kontaminaci spermatu močí a důsledkem snížení osmolality relativně k semenné plasmě k spontánní aktivaci spermií (Linhart et al. 1986; Linhart et Kvasnička 1992). Řešením je odebírání spermatu do immobilisačního roztoku u lína o složení 180mmol NaCl, 2,7mmol KCl, 1,4mmol $CaCl_2.2H_2O$ a 2,4mmol $NaHCO_3$ (Linhart 2004; Rodina et al. 2002).

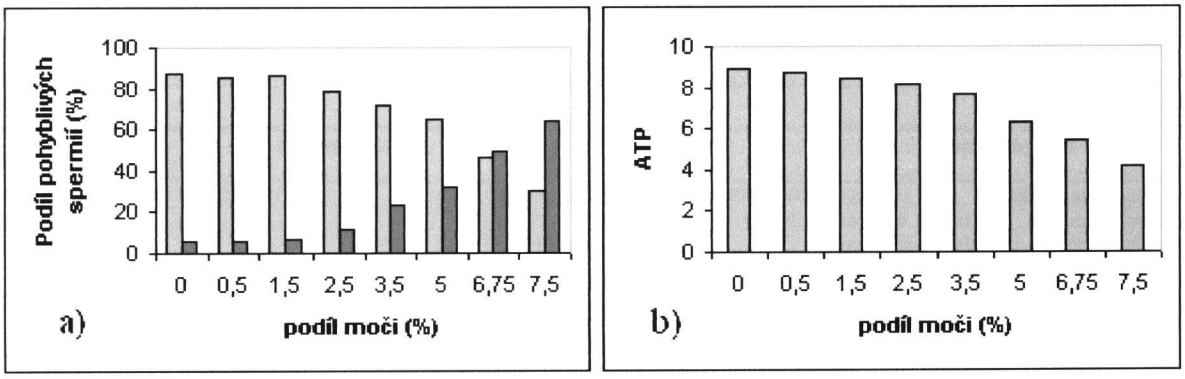
Negativní efekt kontaminace spermatu močí na kvalitu spermatu dokumentuje u kapra (*Cyprinus carpio*) Perchec et al. (1995) a u kambaly (*Scophtalmus maximus*) Suquet et al. (1998), Dreanno et al. (1998). Spontánní aktivaci pohybu spermií vlivem kontaminace spermatu močí popisuje u tilapie (*Oreochromis mossambicus*) Linhart et al. (1999), u sumce (*Silurus glanis*) Linhart et al. (1987), u bolena (*Aspius aspius*) Linhart et Benešovský (1991), u kapra (*Cyprinus carpio*) Poupard et al. (1998), u veslonose (*Polyodon spathula*) Linhart et al. (1995). V porovnání s línem byla zjištěná osmolalita u těchto sladkovodních ryb v průměru nižší. Např. u kapra 18mosmol.kg^{-1}, u tilapie 78mosmol.kg^{-1} a u sumce 50mosmol.kg^{-1}.

Ručně odebrané sperma sladkovodní tilapie (*Oreochromis mossambicus*) je vysoce kontaminováno močí, která je dobrým aktivátorem spermií jak ve sladké, tak ve slané vodě. Osmolalita moči tohoto druhu je 3x nižší než osmolalita testikulárního spermatu, což je

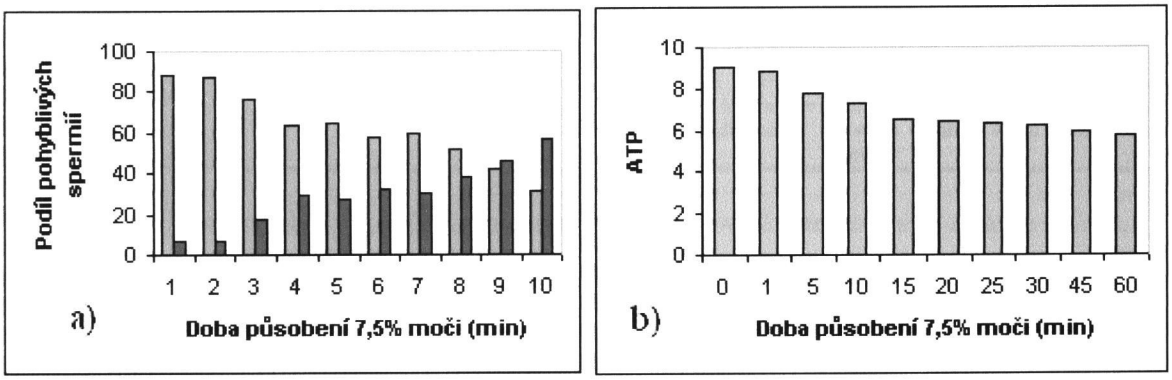
důvodem pro aktivaci spermií. Motilita spermií je kontrolována osmotickým tlakem a kombinací iontů Ca^{2+} a Na^{+} (Linhart et al. 1999).

Sperma odebírané od mlíčáků kapra (*Cyprinus carpio*) je často kontaminováno močí v obsahu 0,5-7,5% (objemově). Bez kontaminace močí mělo sperma obsah ATP v rozmezí 8-9nmol / 10^8 spermií, počáteční rychlost 100-160 $\mu m.s^{-1}$, frekvenci pohybu bičíku 30-50 Hz, 10s po 1/2000 naředění v aktivačním roztoku o složení 45mM NaCl, 5mM KCl, 30mM tris-Hcl, pH 8, osmolalita 160mosmol.kg^{-1}. Při kontaminaci 7,5% močí po dobu 1h byl obsah ATP 4-5 nmol / 10^8 spermií, většina spermií měla počáteční rychlost 30-100 $\mu m.s^{-1}$ a frekvence pohybu bičíku kolísala mezi 10-30 Hz, výsledky viz. graf. 5. a 6. Z toho vyplývá, že za sníženou kvalitu spermií odpovídá nízká osmolalita moči, která aktivuje spermie hned po odebrání (Poupard et al. 1998). Nízkou osmolalitu moči kapra způsobuje přítomnost některých organických (steroidy, karbohydráty) a neorganických (ionty) příměsí (Yano et Ishio, 1978a,b,c; Namba et al. 1987; Kakuta et al. 1986, 1991).

Graf.5. a) Podíl pohyblivých spermií (%) v závislosti na množství moči (%), modrá - spermie s vysokou počáteční rychlostí, fialová - spermie s malou počáteční rychlostí
b) Množství ATP (nmol / 10^8 spermií) v závislosti na množství moči (%) (Poupard et al. 1998).



Graf.6. a) Podíl pohyblivých spermií (%) v závislosti na době (min) působení 7,5% moči, modrá - spermie s vysokou počáteční rychlostí, fialová - spermie s malou počáteční rychlostí.
b) Množství ATP (nmol / 10^8 spermií) v závislosti na době (min) působení 7,5% moči (Poupard et al. 1998).



2.3.8.9 Roční pohlavní cyklus u mlíčáků a jikernaček

Průběh pohlavního cyklu u obou pohlaví štiky obecné žijící v přirozených podmínkách jezer a údolních nádrží byl popsán Zajcevem (1955; 1956), Billardem et al., (1983), Krupauerem et Pekařem (1965). Ti rozdělili průběh ročního pohlavního cyklu jak u mlíčáků, tak i u jikernaček do pěti období. Pohlavním cyklem jikernaček štiky se zabýval Pouvreau (1980), u mlíčáků roční změny sledoval Lofts et Marshall (1957) a Hoffman et al. (1980). Vyživenost v průběhu roku sledovali Diana et Mackay (1979).

Kouřil et Hamáčková (1977) provedli sledování v období jaro 1974 až jaro 1975, kdy byly použity ryby třetí věkové skupiny. Štiky byly chovány v rybníce Kohoutovský s normální obsádkou kapra (K_{2-3}) jako doplňková dravá ryba. Na podzim byl rybník vyloven a štiky komorovány v menším rybníce na pokusnictví VÚRH ve Vodňanech. Potravní základna byla zajištěna přisazením plevelných ryb vhodné velikosti (*Rutilus rutilus*). Rybníky byly mělké, částečně zarostlé, s nízkým průtokem vody. Kvalita vody byla sledována v jednoměsíčních intervalech. Ke sledování průběhu ročního pohlavního cyklu byly v jednoměsíčních intervalech odlovovány vzorky ryb o početnosti 4-10ks. Odlov byl prováděn pomocí zátahové sítě nebo pomocí elektrického agregátu, což se osvědčilo lépe.

Tab.17. Morf. a histologické změny gonád u mlíčáků štiky v průběhu roku (Kouřil, Hamáčková 1977).

Název vývojového období	Časové období	Morfologický stav	Histologický stav
Období regrese	2.pol. IV.-V.	Gonády zabírají přibližně 90% délky plovacího měchýře, cévy viditelné, barva růžová	Dochází ke zplošťování dutin točitých kanálků, kaverny jsou rozevřené, ale se sporadickým výskytem zbylých spermií
Období přípravné	VI.-1.pol. VII.	Gonády téměř u všech jedinců probíhají po celé délce plovacího měchýře, cévy viditelné, barva bílorůžová	Nastupující vlna spermiogeneze
Období masové tvorby pohlavních buněk	2.pol. VII.-1.pol. XI.	Gonády u všech jedinců probíhají po celé délce plovacího měchýře. Stužky gonád nabývají na síle, cévy zřetelné. barva bílá s mírným nádechem do růžova až bíla	V první polovině tohoto období dochází k rychlému zaplňování kaveren spermiocyty. Poté následuje zrací dělení, kdy dochází k změně spermiocytů na spermatidy až spermie
Období předvýtěrové	2.pol. XI.-II.	Gonády po celé délce plovacího měchýře se rozšiřují, tvoří menší laloky, cévy výrazné, barva růžovobílá	Nedochází k žádným změnám
Období výtěrové	III.-1.pol. IV.	Stužky gonád po celé délce plovacího měchýře, barvy růžovobílé, laločnatost se snižuje, šířka též. Cévy viditelné	Jednotlivé kaverny vyprazdňují obsah spemií postupně, nejdříve kaverny ve středu varlat a později na periferii

Sledovány byly v průběhu roku i hodnoty *gonadosomatického indexu (GSI)*. U obou pohlaví dochází k prudkému poklesu na hodnoty několik desetin %, na této úrovni setrvává přibližně do srpna, kdy také dochází k vyrovnání hodnot mezi mlíčáky a jikernačkami, když doposud v průběhu léta byla jeho hodnota u jikernaček vyšší než u mlíčáků. V měsíci září dochází k vzestupu hodnot GSI u obou pohlaví, u mlíčáků je však

tento vzestup strmější ve srovnání s jikernačkami. Od tohoto měsíce dochází u mlíčáků k pomalému postupnému poklesu hodnot GSI až do výtěrového období. Oproti tomu se u jikernaček podíl hmotnosti gonád na hmotnosti ryby neustále zvětšuje až do období vlastního výtěru (Kouřil et Hamáčková 1977).

Tab.18. Morf. a hist. změny gonád u jikernaček štiky v průběhu roku (Kouřil, Hamáčková 1977).

Název vývojového období	Časové období	Morfologický stav	Histologický stav
Období regrese	2.pol. IV.-1.pol. V.	Ovaria zabírají přibližně 90% délky plovacího měchýře, cévy nejsou viditelné, barva bílá až šedá s růžovým nádechem	Zárodečný epitel zůstává v klidu
Období přípravné	2.pol. V.-1.pol. VII.	Ovaria jsou protažena po celé délce plovacího měchýře, mají o 10-20% nižší výšku než v předcházejícím období, cévy zřetelně viditelné, barva je růžovobílá až bílorůžová	Oogonie jsou uzavřeny do zvláštních ovariálních váčků, jejichž zarůstáním a přeměnou v nich uzavřených oogonií v ovocyty I.řádu dochází postupně k vzniku typických vaječníkových lístků
Období hromadné přeměny oogonií v ovocyty I. řádu	2.pol. VII.-IX.	Dochází ke zvýšení výšky ovarií přibližně na 1.5-2.5 násobek proti předcházejícímu období; cévy zřetelně viditelné, barva šedorůžová až bílooranžová, začínají být makroskopicky viditelné jikry	Na počátku tohoto období lze v ovariích nalézt mimo převládajících oogonií i ovocyty I.řádu v období malého růstu a menší množství ovocytů v počáteční fázi velkého růstu a později dochází k hromadné přeměně oogonií v ovocyty I.řádu. Koncem období dochází k vyrovnání vývoje pohlavních buněk.
Období ukládání žloutku do ovocytů I.řádu	X-III.	Značně se zvyšuje nejen šířka ale i výška ovarií, cévy zřetelně viditelné, barva žlutooranžová až oranžová, jikry zřetelně viditelné	V ovocytech se objevují vakuoly a v nich prvá zrna žloutku, později se ukládání žloutku v ovocytech zvyšuje
Období výtěrové	konec III.-1.pol. IV.	Ovaria v řídkých případech mírně laločnatá, cévy zřetelně viditelné, barva žlutooranžová	K ovulaci jiker dochází 1-2 dny před vlastním výtěrem

Tab. 19. Hodnoty GSI u jikernaček a mlíčáků v předvýtěrovém období dle uvedených autorů.

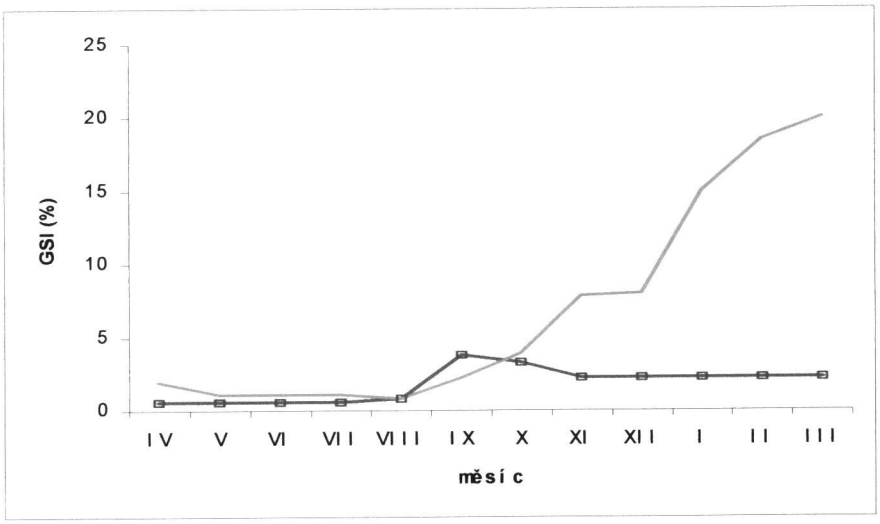
Lokalita	Autor	Gonadosomatický index (%)	
		mlíčáci	*jikernačky*
Ob a Irtyš	Efimova (cit. Hochman 1964)	2,53	10,86-16,67
ÚN Lipno	Krupauer a Pekař (1965)	2,37 (0,51-4,25)	16,1 (8,0-21,9)
Rybníky jižní Moravy	Hochman (1964)	1,97	22,67
Vodňanské rybníky	Kouřil a Hamáčková (1977)	1,99 (0,66-3,05)	19,58 (6,65-33,94)

Ukazatel zralosti u štik z Lipna dosahuje maximálních hodnot v dubnu, již ve výtěrovém období. Data stanovená u jikernaček jsou přibližně shodná s údaji Efimové (1949), která popisuje kolísání hodnoty GSI od 10,9 do 16,7% a jako výjimku uvádí pak hodnotu 21,6%.

V průběhu hodnot GSI se dobře odráží i jednofázovost výtěru. Je to dobře pozorovatelné v náhlém a nápadném poklesu křivky ve výtěrovém období. U jikernaček je to průměrné snížení z 16,1% na 1,43%, u mlíčáků pak z hodnoty 2,37% na 0,86%. U jikernaček, které se z nejrozmanitějších příčin nevytřely, probíhá vstřebávání jiker nejintenzivněji během měsíce května a června., přičemž ještě v červenci byla u těchto jikernaček zjištěna hodnota

GSI vyšší, než u jikernaček, které se třely , těsně po výtěru. Tím je také ilustrováno, jak dlouhodobý vliv má vstřebávání jiker na celý organismus štiky. Toto se musí projevit i na nové vlně ovogeneze, neboť v druhé polovině června a v červenci začínají v ováriích štik již přípravné procesy tvorby ovocytů budoucí generace samičích pohlavních buněk.

Graf 7. Roční průběh GSI u mlíčáků a jikernaček štiky, (Kouřil et Hamáčková 1977).
růžová - jikernačky, modrá - mlíčáci



Proces tvorby a zrání pohlavních buněk mlíčáků štik z Lipna (Krupauer et Pekař 1965) je ukončen v zásadě již v listopadu předchozího roku. Ampule varlat jsou vyplněny masou spermií, které zcela zaplňují dutinu kanálků. Pouze při stěnách některých kaveren je možno nalézt sporadické spermiocyty. Celé zimní období až do poloviny března je proto možné charakterizovat jako dobu poměrného klidu - předvýtěrové latence. Již v únoru - ačkoliv do doby obvyklého výtěru zbývají ještě dva měsíce, je možno zjistit v roztěru z varlat (po přidání vody) intenzivní pohyb spermií. Přibližně 14 dnů před výtěrem štik z Lipna nastupuje etapa vrcholné zralosti spermií, konkrétně se projevují v možnosti umělého výtěru mlíčáků. Samčí pohlavní produkty získáme již po lehké masáži boků ryby. Semenné ampule, vytvářející nepravidelnou síť komůrek a zálivů ústících jeden do druhého, jsou v té době nestejné velikosti. Všechny kaverny jsou vyplněny jednotným vývojovým typem pohlavních buněk - spermiemi. To je také neklamným důkazem jednofázového charakteru výtěru mlíčáků štiky.

Maximální naplněnost semenných kaveren spermiemi je v době výtěru v mediální a kaudální části varlat. Nahloučenost pohlavních buněk v kraniálních partiích varlat je podstatně nižší. Charakteristickým příznakem možnosti transportu spermií směrem k vývodovým cestám je odtržení masy spermií od stěn semenných komůrek. Při samotném výtěru dochází k dřívějšímu vyprazdňování spermií z komůrek ve středu varlat, zatímco v

periferních cystách jsou spermie dosud zachovány. V období již probíhajícího výtěru je pak příznačné, že u některých mlíčáků je část kaveren zcela nebo poloprázdná. To je neklamným důkazem, že odvádění spermií z varlat se může dít postupně. Tím je umožněno jednomu mlíčáku účastnit se i vícekrát výtěru během krátkého výtěrového období.

Na konci výtěrového období nalézáme ve varlatech doposud ještě široce rozevřené semenné krypty, avšak téměř úplně prázdné. Pouze při stěnách některých kaveren lze nalézt nepatrné množství spermií. Krátce po výtěru dochází i k rychlému zmenšování dutin točitých kanálků.

Časový úsek od května až přibližně do prvé poloviny srpna je charakterizován zpočátku regresními a později přípravnými procesy. V období regrese dochází k zániku pohlavních buněk zbylých ve varlatech štik ještě po výtěru. Při resorpci spermií se uplatňují velké okrouhlé buňky s četnými vakuolami, nacházející se jak při stěnách kaveren, tak i v jejich dutině. Označují se jako *fagocytosní.* Kulajev (1939), Buckaja (1959), Krupauer (1962) se domnívají, že se jedná o přeměněné buňky stěnového epitelu semenných cyst.

Zajcev (1955) tvrdí, že v období resorpce spermií, která se podle jeho pozorování uplatňuje ještě v červenci a srpnu, je zárodečný epitel v klidu. Naproti tomu pozorování Krupauera et Pekaře (1965) svědčí o tom, že u štik na Lipně je regresní období daleko kratší.

V podzimních měsících (září-říjen a prvá polovina listopadu) vznikají ve varlatech mlíčáků štik velmi rychle nové pohlavní buňky. Kaverny se rychle zaplňují spermatocyty, které pak začátkem listopadu se při zracích děleních v krátkém časovém úseku přeměňují ve spermatidy a posléze ve spermie.

Na rozdíl od mlíčáků, probíhají intenzivní procesy (především deutoplasmatické) ve vaječnících jikernaček štik i krátce před výtěrem. Ukládání žloutku do ovocytů I.řádu nastupuje ovšem již na podzim - říjen až listopad. Ovocyty jsou v této době makroskopické a nabývají stále více žlutého zbarvení. Během zimy jsou v nich ukládána další žloutková zrnka a jejich průměr se proto plynule zvětšuje. V únoru převládají ve vaječnících štik ovocyty I.řádu v období velkého růstu. Pouze v poutkách těchto ovocytů, respektive u stěn ovárií, se vyskytují i ovocyty v období malého růstu a poměrně hojné oogonie. Ty bývají uzavřeny v charakteristických dvorcích, ovariálních váčcích, které jsou vlastně již základem budoucích vaječníkových lístků, rozrůstajících se ovšem až druhé poloviny vegetačního období.

Ovocyty I.řádu v období velkého růstu se vyznačují v únoru a březnu dobře patrným trojvrstevným obalem a jádrem posunutým na periferii buňky. Jádro vaječné buňky bývá lemováno celkem pravidelným proužkem protoplasmy. Koncem března a v dubnu dochází v některých jikrách k splývání žloutkových zrnek ve středu buňky v téměř homogenní hmotu,

vzbuzující dojem jádra. Jindy opět splývají žloutková zrnka v periferii buňky a pak vytvářejí charakteristický žloutkový prstenec.

Ovocyty I.řádu v období velkého růstu mají od března již okrouhlý až oválný tvar (menší průměr zpravidla neklesne pod 1,5mm a delší průměr nestoupne nad 2,8mm). Na povrchu jsou jikry opatřeny třemi obaly, podle původu primárním a dvěma sekundárními. Nejslabší vrstvou je vnitřní primární obal, protoplasmatického původu. Dosahuje sotva $^{1}/_{10}$ - $^{1}/_{5}$ nejmocnější střední vrstvy. Na ni navazuje *corona radiata*, nejsilnější ze všech obalů jikry. Nevyznačuje se však tak typickou paprsčitou strukturou jako např. u kapra. Třetí obalovou vrstvou, rovněž sekundárního původu je *chorion.* Jasně je v něm místy zachována struktura folikulárních buněk. Tato vrstva je skoro stejně silná jako předchozí. Na jejím povrchu splývají folikulární buňky v téměř souvislou vrstvičku, označovanou někdy jako povrchová.

Ovaria jikernaček jsou v této době nejobjemnějším orgánem břišní dutiny. Mají tvar protáhlých vaků, ležících vpravo a vlevo pod plovacím měchýřem. Přes průhledné stěny vaječníků je možné pozorovat nahloučené žluté jikry.

Ovšem u jikernaček chycených přímo na trdlištích našli Krupauer et Pekař (1965) i menší množství ovocytů I.řádu v období malého růstu a hlavně pak i oogonie. Tyto pohlavní buňky jsou zachovány ve vaječnících při výtěru jen tehdy, nacházejí-li se v těsné blízkosti stěn vaječníků, na které dosedá zárodečný epitel. Pokuď se tyto buňky vyskytují v poutkách jednotlivých jiker, pak při ovulaci zanikají.

K ovulaci jiker štik v Lipně dochází 24 až 48 hodin před samotným výtěrem. Zajímavé je zjištění, že ovulace v pravé a levé gonádě nemusí probíhat souběžně. Toto zpoždění v uvolňování jiker se však do začátku výtěru vyrovná.

Ovaria i dokonale vytřených jikernaček obsahují vždy menší počet jiker (od několika kusů až po desítky), jejichž resorpce probíhá poměrně pomalu až téměř do konce června. Vstřebávání těchto ojedinělých jiker nenarušuje proces tvorby pohlavních buněk v dalším cyklu ovogeneze. V květnu a červnu nacházíme v ováriích jikernaček tedy zpravidla několik jiker, které jsou resorbovány, dále pak menší množství ovocytů I.řádu v období malého růstu a hlavně značné množství oogonií. Oogonie jsou uzavřeny ve zvláštních dvorcích, zcela podobných ovariálním váčkům, které jsou typické pro gonády juvenilních jedinců. Rozrůstáním těchto ovariálních váčků a přeměnou v nich uzavřených oogonií v ovocyty prvního řádu dochází k vzniku typických vaječníkových lístků. Znamená to tedy, že v gonádách jikernaček štik probíhá v přípravném období proces ovogeneze v jistém smyslu od samého počátku, to je včetně masového vzniku oogonií, i tvoření primárních ovariálních váčků. Toto období ovšem není doslovným opakováním období juvenilního, neboť tu existuje

již zárodečný epitel, vaječníky i vývojové cesty jsou rovněž zformovány. Procesy v přípravném období u jikernaček, které se již alespoň jednou třely, probíhají na kvalitativně vyšším vývojovém stupni.

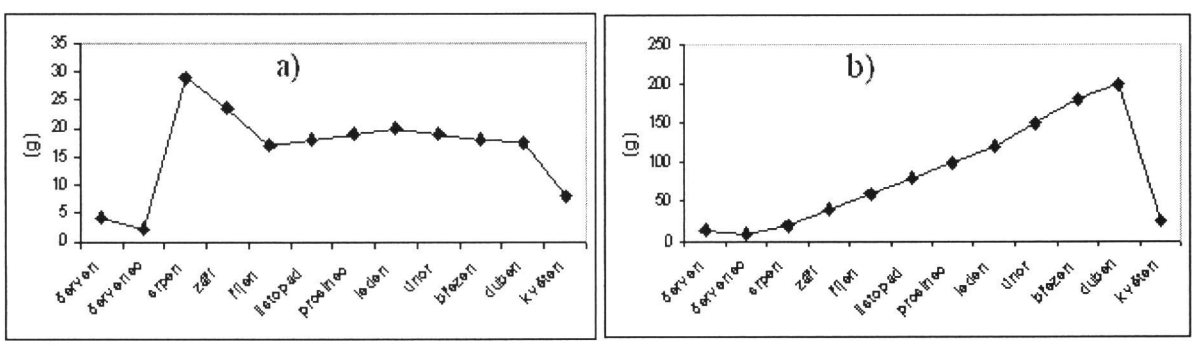
I když v červenci byla zaznamenána nejnižší hodnota GSI štičích jikernaček, je možné z histologického obrazu ovarií usuzovat, že není daleko doba k zahájení nové vlny ovogeneze. Ve vaječnících početně převládají oogonie, je však možné nalézt i ovocyty I.řádu v období malého růstu a dokonce některé pohlavní buňky přecházejí do prvé fáze období velkého růstu (začínající vakuolizace protoplasmy). Samičí pohlavní orgány štik obsahují v tomto období krajně nejednotný vývojový typ pohlavních buněk. Vyplývá z toho, že v těchto ranných obdobích ovogeneze je velmi problematické usuzovat na charakter samotného výtěru.

Srpen a září jsou měsíce vyznačující se hromadnou přeměnou oogonií v ovocyty I.řádu. V protoplasmě části ovocytů se začínají objevovat vakuoly a ke konci tohoto období vznikají v nich i prvá žloutková zrnka. Ovocyty jsou již většinou makroskopické velikosti, bělavé až bíložluté barvy. Vývoj pohlavních buněk se začíná vyrovnávat.

V říjnu a listopadu dochází již k intenzivnímu ukládání žloutku do vaječných buněk. Ovocyty I.řádu v období velkého růstu jsou povětšinou okrouhlého tvaru (ø 1-1,5mm) a nabývají žluté barvy se slabým červeným odstínem. Ovária se stávají objemnější (hodnota GSI rychle vzrůstá) a lze říci, že jsou již v této době nejnápadnějším orgánem břišní dutiny (Krupauer et Pekař 1965).

Billard et al. (1983) sledoval změny v hmotnosti varlat v průběhu roku u mlíčáků 3+ štiky (graf.8a) a změny v hodnotách GSI. Podle něj je GSI u mlíčáků nejvyšší v srpnu (2,8%) a od října se ve varlatech vyskytují již převážně jenom spermie. Billard et al. (1983) sledoval též změny v hmotnosti vaječníků v průběhu roku u jikernaček štiky (graf.8b) a změny v hodnotách GSI. Podle něj je GSI u jikernaček nejvyšší v dubnu (20%).

Graf. 8. a) Změny v hmotnosti varlat u štiky v průběhu roku (Billard et al., 1983)
b) Změny v hmotnosti vaječníků štiky v průběhu roku (Billard et al., 1983).



2.3.8.10 Dozrávání samčích a samičích pohlavních buněk

Dozrávání samčích pohlavních buněk ?

Primární spermatogonie, což je permanentní zárodečná buňka uzavřená do lůžka ze Sertoliho buňky, se mitoticky dělí. Z nich se vytvoří v době nástupu spermatogeneze spermatogonie sekundární, které se několikrát dělí a seskupují se do cyst. Sertoliho buňky hrají dominantní roli v rozvoji testes a jeho funkci. V cystách nastupuje meiotické dělení u spermatogonií sekundárních s produkcí spermatocytu a nakonec haploidní spermatidy (pohlavní buňky). Následuje spermiogeneze se změnou spermatid na spermie, což je doprovázeno eliminací plasmy (ztráta 80-90%), kondenzací chromatinu a vytvořením bičíku. Spermie se uvolňují z cyst a zaplňují kanálek lobulu. Později se dostávají do odvodných kanálků, dochází ke koncentraci spermatu v odvodných kanálcích (Linhart 2004).

Dozrávání samičích pohlavních buněk ?

Primární ovogonie se mitoticky množí a jsou obaleny primárním folikulem. Ty se mění v sekundární ovogonie s rostoucím folikulem (více vrstevný epitel, théka) s dutinou, v které se ovogonie sekundární mění na ovocyt I.řádu. Ovocyt I.řádu roste ve folikulu obklopen *coronou radiata*. Zralý folikul s vajíčkem je tzv. Graafův folikul. Systém růstu a zrání je synchronní (Linhart 2004).

Růst ovocytů probíhá při zadržení meiozy. Při *předvitelogenním růstu* (protoplasmatický růst) dochází k produkci ribosomální RNA a mRNA. Glycoproteiny se syntetizují a později formují v období vnějšího růstu do kortikálních granulí. Začínají se v ovocytu vyvíjet ovocytární lipidy. Folikul a jeho struktura se vyvíjí do formy mikrovýrůstků korespondující s výrustky v oblasti zony radiata (vitelinní obálky ovocytu a budoucího vajíčka). Vlastní prorůstání mikrovýrůstků (klků) obálky ovocytu do obalu folikulu je umožněno tvorbou tzv. VE proteinu (vitelinního proteinu), kontrolovaného estrogeny.

V místech výrůstků se vytvářejí tzv. vnější kanálky pro transport především vitelogeninu (*vitelogenní růst*). To je glyko-fosfolipo-protein syntetizovaný v játrech s transportem přes cévní systém. Transportují se též strukturální lipidy a esenciální tuky. Vitelogenin se dostává přes jednotlivé vnější a vnitřní vrstvy folikulu a vnější vrstvy ovocytu (kanálky) až k ovolemě, naváže se na specifický receptor (s dekodovaným genem) v oblasti ovolemy, vytvoří váček procházející ovolemou do ovocytu a fúzuje s lysozomem. Následuje v lysozomu vznik žloutkového proteinu (Linhart 2004).

Z vitelogeninu se vytváří dva hlavní žloutkové proteiny - lipovitelin (Lv) a phosvitin (Pv). Lv je důležitý pro embryogenezi a Pv důležitý pro transport iontů pro tvorbu skeletu a metabolické funkce.

Nastává tvorba *vitelinní membrány* (obálky, zona radiata). Obal tvoří théka, folikulírní epitel, rosolovitá vrstva budoucího ovocytu a vajíčka, zona radiata ovocytu (chorion) a kortikální vrstva ovocytu. Zpočátku je vitelinní membrána budovaná jako vnější a vnitřní vrstva s další strukturací.

Dochází k *cytoplasmatickému dozrání*, tedy hydrataci, dokončení proteolýzy a přípravě ovocytu k výtěru do jiného osmotického prostředí na kterém se podílejí některé aminokyseliny.

Ovulace se skládá z procesů degradace a prasknutí Graafova folikulu a procesu vypuzení zralého vajíčka do vejcovodu a dále do vnějšího prostředí. Ovulace je asociována s degradací zbylého folikulu za účasti progesteronu a prostaglandinu s aktivací proteolytických enzymů.

2.3.8.11 Hormonální řízení diferenciace pohlaví a zrání pohlavních buněk

V těle každého nového jedince vznikají gonády z tzv. primordiálních gonocytů, neboli PGC buněk (primordial germ cells) = prapohlavní buňky (Linhart 2004). Pohlavní buňky se z nich diferencují již v období časné embryogeneze. PGC je možno vizualizovat pomocí zeleného fluorescenčního proteinu pocházejícího z medúzy a takto vizualizované PGC odebrat a uchovávat ve zmrazeném stavu, popř. použít k přenosu do hostitelských embryí (chiméry).

Gonády jsou tvořeny somatickými buňkami s kolonizací PGC. Diferenciace ovaria začíná mitotickým dělením kmenových (zárodečných) buněk, ale rovněž i somatických buněk, na které navazuje produkce buněk pro produkci steroidů a meiotická profáze u zárodečných buněk.

Diferenciace varlat začíná u normálních gonochoristů mitozou spermatogonii, tvorbou buněk produkující steroidy a následnou meiozou sekundárních spermatogonií s přechodem na spermatocyty.

Iniciátorem diferenciace jsou s největší pravděpodobností (Linhart 2004) endogenní hormony. Z mnoha experimentů je jasné, že exogenně podávané androgení a estrogení hormony jsou velmi efektivní. Primární pro diferenciaci samičího pohlaví jsou folikulární buňky se steroidním hormonem kolem PGC v zakládajících se ováriích. Ve varlatech jsou to

Leydigovy buňky pro produkci steroidů se signálem z adenohypofýzy. V další fázi je dominantní FSH gonadotropin s produkcí steroidů v Sertoliho buňkách.

Hormonální řízení zrání pohlavních buněk u mlíčáků ?

Řízena je aktivita kmenových buněk v gonádě (samoobnova a produkce diferenciovaných zárodečných buněk s determinací, která buňka vstoupí do spermatogeneze), proliferace spermatogonií se vstupem do meiozy, ztráta pohlavních buněk v průběhu zrání v cystách s následnou apoptozou a množení Sertoliho buněk.

Nejvyšším řídícím centrem s kontrolou nad gonádami je hypotalamus s produkcí GnRH I a II (Linhart 2004). To jsou hormony, které stimulují vylučování GTH I (FSH) a GTH II (LH) z adenohypofýzy. FSH působí na Sertoliho buňky s produkcí steroidů, řídí i rozmnožování Sertoliho buněk a spermatogenezi. Má vliv na produkci růstového hormonu (komplexní funkce) a steroidního hormonu 11-keta testosteronu. LH působí na Leydigovy buňky (nachází se v gonádě mezi cystami) s produkcí steroidů (11-keta testosteron) použitelných pro spermiogenezi. GTH stimulují steroidní hormony, tzn. především testosterony, jejichž hlavní součástí je 11-keto testosteron v Sertoliho buňkách. 11-keto testosteron pak stimuluje růstový faktor produkovaný Sertoliho buňkami. Testosteron vyskytující se v gonádách není přímo řízen pomocí FSH.

Steroidní hormony tvoří komplex androgeních (testosteron, 11-keta testosteron), estrogeních a progestiních hormonů. 11-keta testosteron stimuluje spermatogenezi a spermiogenezi prostřednictvím insulinových růstových faktorů a activinu. Komplex estrogenů (E2) reguluje spermatogoniální funkci kmenových buněk.

Výsledkem je nepřímá regulace spermatogeneze s testosteronem, kde dominujícím androgenem je 11-keta testosteron, prostřednictvím stimulace růstu se syntézou steroidních hormonů, tzn. androgenů, estrogenů a progestinů. Steroidní hormony ovlivňují znovu obnovu spermatogoniálních kmenových buněk a iniciaci spermatogoniálního rozmnožování, mitózy, meiozy a apoptozy (Linhart 2004).

Hormonální řízení zrání pohlavních buněk u jikernaček ?

Řízena je produkce vitelogeninu, růst ovocytů v průběhu zadržení meiozy, dozrávání ovocytů, ovulace, folikulogeneze, tedy celá ovogeneze.

Nejvyšším řídícím centrem je opět hypotalamus s produkcí GnRH I a II (Linhart 2004). To jsou hormony, které stimulují vylučování GTH I (FSH) a GTH II (LH) z adenohypofýzy. Vícenásobné faktory, jako jsou GnRH, serotonin, activin a neuropeptid,

stimulují vylučování FSH. Inhibiční faktory kontrolující sekreci FSH jsou způsobeny dopaminem, který je kontrolován vzrůstající sekrecí GnRH a steroidy s regulací GABA (GABA reguluje a stimuluje rovněž GnRH). Faktory prostředí a externí faktory působí přímo nebo nepřímo přes GnRH-FSH, především přes úroveň melatoninu (hormon z epifýzy). Sexuální steroidy ovládájí pozitivně i negativně jak sekreci GnRH, tak následně FSH (Linhart 2004).

Vitelogeneze je způsobena pomocí LH. Růst ovocytů v průběhu zadržení meiozy je kontrolován produkcí 17-beta estradiolu v granulózních buňkách za účasti aromatázy. 17-beta estradiol vzniká za podpory aromatázy z testosteronu difundující z granulózních buněk z théky. Vytváření vitelinní membrány je regulováno komplexem hormonů E2. Za dozrávání ovocytů je odpovědný LH. V době dokončení folikulu s ovocytem se LH naváže na receptor v théce, který spustí tvorbu tzv. indukčně dozrávacího hormonu (MIH) v závislosti na meioze. LH je též odpovědný za znovu nastartování meiozy. Schopnost ovocytu dozrát kontroluje především GTH v návaznosti na activin A a B. Produkce MIH je důležitá pro ovulaci a je ovládaná nMIHR (jaderný dozrávací indukční receptor). Výsledkem stimulace je produkce prostaglandinu PGF (Linhart 2004).

2.3.8.12 Třecí akt

Často již během ledna lze zastihnout samce, kterým po mírném tlaku na břišní dutinu vytéká mléčně zbarvené sperma (Krupauer et Pekař 1965). Přirozené rozmnožování štiky je ohrožováno nízkými hladinami, nedostatkem vhodného substrátu i kolísáním hladiny, zejména v údolních nádržích.

Zpočátku se tření v pobřežní části účastní štiky menších rozměrů, největší ryby připlouvají na trdliště později (Korzynek 1956). Zvýšenou aktivitu samců lze pozorovat delší dobu před třením.. Projevuje se vyšší přítomností ryb na místech, kde obvykle během roku nebývají, proplouvání jednotlivých exemplářů nebo i celých skupin kolem příštích trdlišť. Uvádí se obvykle, že několik samců doprovází jednu samici. Rawson (1932) pozoroval na trdlištích shodný počet samců a samic, zatímco Clark (1950) uvádí příklady polygamie v podobě převahy samců na začátku tření, s postupným zvyšováním podílu samic. Tím samým autorem je též popsán večerní výtěr.

Velmi podrobně popsali třecí akt Krupauer et Pekař (1965) na ÚN Lipno. Štiky se tam vytírají většinou v dubnu při teplotě vody 8-9°C. Štiky zpočátku projíždějí ojediněle i v menších skupinách podél břehů, v hloubce od 1 do 2m. Tuto fázi lze charakterizovat jednak počátečním tvořením nestálých populačních skupin a soustřeďováním štik na místa, skýtající

určité podmínky k výtěru. Štiky se koncentrují do zátok a k mělkým břehům s vhodným výtěrovým podkladem. Mlíčáci vykazují již vrcholnou zralost pohlavních produktů (mlíčí se získá snadno po mírné masáži boků ryb), zatímco jikernačky nemají jikry doposud ovulované. Štiky přijímají ojediněle i potravu.

Další fáze, časově plynule navazující na prvou, spočívá v najíždění generačních štik do příbřežních mělčin. Štiky na nich (v hloubce 20-40cm) setrvávají značně dlouhou dobu za minimálního pohybu. Do mělčin se stahují až po prohřátí vody přibližně mezi 10.-11. hodinou, a zůstávají na nich i po setmění. Např. výskyt štik byl v příbřežních partiích zjišťován ještě kolem 21. hodiny (Krupauer et Pekař 1965). Po krátkém období klidného ležení dostavují se již nejtypičtější předvýtěrové příznaky. Štiky střídají období klidu s náhlými a prudkými pohyby. Pohyb štik připomíná reakci na vyplašení v mimovýtěrovém období. Maximální pohybová aktivita byla zaznamenána kolem 18. hodiny.

Charakteristický je postoj štik, ležících v této fázi kolmo ke břehu, a to již v různě početných skupinách, méně často i jednotlivě. Ostražitost štik se snižuje, takže se k nim lze přiblížit i na malou vzdálenost. Pohyblivost štik je s největší pravděpodobností projevem stálého přetváření populačních skupin i určitého nátlaku na jikernačky ze strany mlíčáků. V tomto období byly zaznamenány i první jikernačky s ovulovanými jikrami.

Pro předvýtěrové i výtěrové období, které následuje při stálém teplém počasí ve 24 až 48 hodinách, jsou příznačné střídavé tahy do mělčin a z mělčin. Tyto tahy souvisejí s prohříváním vody v mělčinách během dne jejím ochlazováním v noci. Náhlé změny v teplotě mohou podstatně oddálit začátek výtěru. Je zajímavé, že v tomto případě jikernačky dále nedozrávají (Krupauer et Pekař 1965).

Podstatné změny v teplotě i celkovém počasí (kupř. bouřlivý vítr, déšť, sníh apod.) v období těsně před výtěrem, pokud netrvají déle (asi týden), nemají škodlivý vliv na pozdější výtěr. Je-li samotný výtěr štik přerušen náhlou a dlouho trvající změnou atmosférických podmínek, pak mohou nastoupit resorpční procesy.

K vlastnímu výtěru štik dochází za teplého, převážně bezvětrného počasí. Generační štiky plavou od rána v hejnech na hloubě 2 až 3m. Přibližně po 10. hodině začínají jednotlivé skupiny najíždět do břehů. V roce 1960 byly pozorovány skupiny asi 20ti členné, v dalších dvou letech již jen 3 až 5ti členné, s jednou nebo dvěma jikernačkami. Pozorovány byly i jen párové skupiny. K výtěru dochází v celém úseku téměř naráz.

Výtěr štik je poměrně bouřlivý. Vzhledem k tomu, že se uskutečňuje na mělčinách a v různě početných skupinách, je provázen i vystřikováním vody, zvlněním hladiny apod. V tomto období dochází též k vzájemnému smíchání jednotlivých populačních skupin

(hromadný výtěr). Štiky leží při výtěru bok po boku v mělčinách a jen čas od času prudce vyrážejí podél břehu i k němu, asi na vzdálenost 2-3m.

Podle nálezu jiker na umělých trdlištích, rozmístěných v různé hloubce (od 1,5 do 20cm), můžeme výtěrovou zónu štik označit hloubkou maximálně 50cm. Nejvyšší intenzita výtěru byla pozorována zpravidla až v odpoledních hodinách (15-18h) a výtěr pokračoval i po západu slunce (Krupauer et Pekař 1965).

I když výtěr u jikernaček štiky je typicky jednofázový, může se výtěr jedné a téže jikernačky z různých příčin protáhnout na dobu delší než 24h. Nejčastější příčinou je náhlá změna atmosférických podmínek.

Vhodné podmínky pro tření vznikají při postupném zvyšování vody, kdy jsou zatápěny nové plochy většinou s bohatým rostlinným krytem. V době po výtěru je nutno zabránit alespoň po dobu 14 dní poklesu vody, aby mohl proběhnout úspěšný vývoj jiker přilepených na ponořených rostlinách. Přirozené rozmnožování štiky je úspěšné zejména u nově napuštěných nádrží a dále na tocích, kde dochází v jarním období k inundačním záplavám (např. oblast dolního toku Moravy) (Lusk et Krčál 1982).

Ryby s vyvinutým pohlavním rozmnožováním potřebují synchronizovat dozrávání gamet s vnějším prostředím a v rámci populace jedinců. Ryby řeší tento problém pomocí reprodukčních hormonů jako vnitřní signály sjednocující výtěrové chování spolu s dozráváním gamet a vnějšími signály (*feromony*) synchronizující výtěrové chování mezi rybami. Feromony synchronizují vitelogenezi u populace jikernaček. Především jsou však feromony schopny stimulovat spermiogenezi a výtěr mlíčáků (Linhart 2004).

2.3.8.13 Umělá reprodukce

S dnešními možnostmi je pro výrobu 10mil. oplozených jiker zapotřebí asi 1 tuny generačních štik. Obě pohlaví jsou komorovány dohromady ve vhodné komoře pro štiky, tzn. rybník s dostatkem průtočné vody (Smíšek 1967). Ke generačním štikám se přisazuje 2-3x množství krmné ryby. Snažíme se nasazovat generační ryby o podobné velikosti vzhledem k významnému kanibalismu. Rybník se na podzim napouští do 2/3 a až na jaře se zaplaví zarostlé okraje, kam štiky po prohřátí na 7-9°C najíždí k výtěru. Štiky se odlovují na trdlišti a převážejí do líhně. Obvykle se na počátku výtěrového období do líhně přesunou mlíčáci, kde zůstávají až do konce výtěru Je též možnost štiky z komory počátkem března vylovit a podle pohlaví rozdělit do menších manipulačních rybníčků. Při teplotě vody nad 7-9°C se u jikernaček potom pravidelně kontroluje připravenost k výtěru (Linhart 2004). Způsoby též

popisují Lusk et Krčál (1982) nebo Pecha (1986), který popisuje metody používané na štičí líhni v Táboře.

Anesteze se většinou nepoužívá, je možné použít hřebíčkového oleje v dávce 4ml na 100 litrů vody nebo 2-phenoxyethanolu (Merck) v dávce 0,5ml.l^{-1} (Montalembert et al. 1978). Nejvhodnější metodou je odlovit ovulující jikernačky z okrajů rybníků, převést do líhně a ihned vytírat. U neovulujících jikernaček je možné vyvolat ovulaci kapří hypofýzou s nasazením jikernaček do žlabu temperovaného na 12°C. První dávka hypofýzy je 0.5-0.7mg.kg^{-1} a druhá 4-5mg.kg^{-1} po 24h. Ovulace nastává 24 až 72h po druhé dávce. Mlíčákům se rovněž může aplikovat kapří hypofýza v dávce 2mg.kg^{-1}. Je též možno mlíčáky zabít, testes vyjmout a extrahovat po odstranění krve (Linhart 2004).

Jikry se vytírají nebo odebírají do suché misky (4-5l) po osušení jikernačky v místě pohlavního otvoru. Sperma je odebíráno do injekční stříkačky v místě pohlavního otvoru, pokud možno bez příměsi moči, která spermie aktivuje. Okamžitě po odběru spermatu provádíme osemenění 2ml spermatu na 1kg jiker. Nebo používáme extrahované testikulární sperma ze zabitých mlíčáků. Zásadně se používá heterosperma. Odebrané testikulární sperma nebo vyjmuté testes je možné po odstranění krve uchovávat až 48 hodin při teplotách +2°C (Linhart 2004).

Okamžitě po výtěru jiker se odstraňuje moč z jiker a jikry se osemeňují. Na 100g osemeněných jiker se používá k aktivaci 100ml vody, promíchá, a po 3-4 minutách se jikry odlepkovávají jílem nebo talkem (10g.l^{-1}) po dobu 30-40 minut.

Jikry po odlepkování v objemu 3l jsou umístěny do Zugských, Chaseových nebo Kanengieterových lahví o objemu 7-10l s inkubací při teplotě 6-12°C. Provádí se provozní malachitování (2mg.l^{-1} po dobu 2-10 min). Odstraňujeme mrtvé jikry. K inkubaci jiker je nejvhodnější používat vyšší teplotu na úrovni 12-13°C z důvodu rychlejší inkubace a tím snížení embryonální mortality (menší rozvoj plísní) (Linhart 2004).

Plůdek dosáhne očních bodů po 70°d a kulí se po 120°d. Z inkubačních lahví jsou jikry ještě před kulením přenášeny do žlabů EWOS nebo inkubačních aparátů Rűckel-Vacek pro lososovité ryby (asi 40-80 tis. na jeden aparát). K vykulení dojde za dva dny. Do aparátů se vkládají závěsné přepážky z plechu či z jiného materiálu k přichycení váčkového plůdku. Pokud nemáme inkubační aparáty pro lososovité ryby, umisťujeme takřka vykulený plůdek do plochých žlabů s odstraňováním obalů z jiker a vkládáním příchytných přepážek.

Zhruba po 6-10 dnech přechází plůdek z endogenní na exogenní výživu. Po rozplavání je vysazován a krmen ve žlabech EWOS v množství 6-7 kusů váčkového plůdku na 1 litr. Krmí se tříděným zooplanktonem v množství 30% biomasy štik. Teplotu udržujeme pod

hranicí 15°C, protože vyšší teplota vede k významnému kanibalismu. Za tři týdny plůdek dosahuje velikosti 3-5cm, ztráty jsou 50-60% (Linhart 2004).

Odchov provádíme v polykultuře s K1 nebo K2, a to 1-2 tis. kusů štik v rybníku s větším množstvím porostu. Ztráty dosahují 60-90%. Je možný odchov v monokultuře v menších rybnících či příkopových rybnících, sádkách. Nasazujeme asi 80tis. kusů na hektar. Nezbytný je dostatek přirozené potravy, vytváříme planktonní hnízda, hnojíme chlévskou mrvou asi $4t.ha^{-1}$. Po 2-3 týdnech měří plůdek 4cm, ztráty dosahují 50% (Linhart 2004).

Nejvyšší efektivnost v zarybňování rybářských revírů má vysazování násady štiky jako ročka, je ovšem nutné ryby vysazovat jednotlivě do břehových linií po určitých intervalech, na vhodná místa s dostatkem úkrytů (Lusk et Krčál 1982).

2.3.8.13.1 Použití aktivačních a immobilisačních roztoků

Aktivační (oplozovací roztoky)

Motilita spermií u kapra nebyla zahájena v aktivačním roztoku obsahujícím NaCl, KCl ani manitol, které mají osmotický tlak asi $300mmol.kg^{-1}$ i vyšší (Morisawa et Suzuki 1980; Ploudy et Billard 1982). Naopak byl pohyb iniciován u kaprovitých v roztoku obsahujícím 50mM NaCl a 80-100mM KCl (Grant et al. 1980; Morisawa et al. 1983). Redondo et al. (1991) zjistil, že schopnost spermií se pohybovat u kapra byla zachována po naředění spermií roztokem s 200mM KCl. Kationt K^+ také regeneruje schopnost spermií k pohybu s minimální potřebou 50mM KCl v roztoku s vysokým osmotickým tlakem ($380mmol.kg^{-1}$) (Redondo et al. 1991). Linhart (2004) uvádí následující chemické složení aktivačního roztoku pro sumce : 1g NaCl+0,6g trisu, pH8.

U štiky se při umělém výtěru projevuje nedostatek kvalitního spermatu s vitálními spermiemi. Kvantitativní nedostatky v objemu spermatu či koncentrace spermií se dají nahradit využitím heterospermie, hodnocení motility spermií, využitím speciálních oplozovacích roztoků, případně ředidel k uchování fertility spermií do osemenění. Využití těchto metod je limitováno znalostmi základních kvantitativních a kvalitativních ukazatelů spermatu (Linhart, 1984).

Úroveň oplozenosti jiker u jednotlivých uměle vytíraných druhů ryb je závislá na kvalitě jiker, spermií a na oplozovacím roztoku. Náhrada běžně používané vody z líhně oplozovacím roztokem přináší zvýšení oplozenosti jiker a tím i zvýšení výroby váčkového plůdku. Výrazně se zvyšuje oplozenost především v případech nedostatku či snížení kvality spermatu. Projevem zvýšené oplozenosti je dále snížení pracnosti při ošetřování jiker, nižší stupeň zaplísnění jiker a tím i další zvýšení výroby váčkového plůdku. Materiálové náklady

vložené do zvýšení kvality jiker a spermatu formou krmiv, ploch rybníků a vložené lidské práce jsou mnohonásobně vyšší než náklady na oplozovací roztoky.

Oplozovací roztok aktivuje pohyb spermií a osmózu spermií a jiker. Immobilizující roztok zastavuje pohyb spermií a omezuje osmózu spermií a jiker. Voda či oplozovací roztok aktivují metabolismus spermií, jehož projevem je pohyb spermií. Voda však svou velmi nízkou osmotickou koncentrací způsobuje také porušení bičíku, což se projevuje zástavou pohybu spermie. Naopak oplozovací roztoky vytvářejí příznivější prostředí pro spermie. Aktivace pohybu není již spojena s porušením bičíku. Spermie proto v oplozovacím roztoku vykazují delší pohyb. Příznivou koncentrací látek a iontovým polem aktivují oplozovací roztoky metabolismus, který se projevuje zvýšenou aktivitou spermií a nižší difusí, nezpůsobující tak rychlé porušení bičíku. Pohyb spermií se v oplozovacích roztocích prodlužuje 2-5 krát v závislosti na fázi pohybu spermií. U jiker lze najít určitou obdobu. Oplozovací roztoky oproti vodě významně snižují difusi (jejímž projevem je bobtnání jiker) a prodlužují několikanásobně uzavírání mikropyle, pokud nedojde k průniku spermie.

Imobilizující roztok umožňuje zastavit pohyb spemií, což je vyvoláno vysokým osmotickým tlakem roztoku a poměrem sodných a draselných kationtů, které působí na omezení prosté difuse a aktivní transport iontů. Spermie se zpětně aktivují po přilití vody, která změní osmotickou koncentraci, aktivuje metabolismus a tím i pohyb spermií.

Oplozovací roztok se aplikuje ihned po promíchání spermatu s jikrami. Musí mít shodnou teplotu s teplotou jiker a vodou určenou k inkubaci jiker. Teplotní rozdíl při oplozování může mít za následek nižší životaschopnost vykuleného plůdku. Obvykle se používá oplozovací roztok o teplotě vyšší než 5°C (teploty okolo 0°C tlumí pohyblivost spermií). Množství oplozovacího roztoku je nutné volit tak, aby došlo k úplnému ponoření jiker a nad jikrami ještě zůstala vrstva oplozovacího roztoku. Mikropyle jikry je ve většině případů otočeno směrem nahoru, proto je nutné úplné ponoření jiker. Množství oplozovacího roztoku však nesmí být nadměrné, neboť se tím snižuje relativní množství spermií na jednu jikru a snižuje se doba pohyblivosti spermií. Obecně se doporučuje poměr 1 díl oplozovacího roztoku na 3-4 díly jiker (250-330ml roztoku a 750-660ml jiker). Po přilití oplozovacího roztoku se jikry s roztokem promíchají, nechají se chvíli stát a poté se znovu cyklicky promíchávají, vždy po 10-20s. Jikry se promíchávají z důvodu zamezení náhodného překrytí mikropyle jinými jikrami a z důvodu další homogenizace jiker s aktivovanými spermiemi.

V praxi se u štiky jeví nejnižší oplozenost jiker, pokud se nepoužije oplozovací roztok. Na 1 litr jiker se zde používá vždy největší množství spermatu, jaké lze získat. K aktivaci jiker a spermií je proto nutno vždy použít oplozovací roztok. Jeden litr jiker se osemeňuje 2-

3ml spermatu, nebo spermatem z vypreparovaných a rozstříhaných varlat od 3 mlíčáků, nejlépe však s použitím maxima spermatu a spermatem z jednoho varlete od 3 mlíčáků. Doba oplozování je deset minut. Pro dobrou oplozenost se doporučuje oplozovat v jedné nádobě maximálně 1 litr jiker. Před osemeněním se doporučuje ponechat jikry štiky v klidu 0,5 až 1 hodinu po výtěru z důvodu dokončení meiotických pochodů v jikrách a dokonalejší přípravy gamet k oplození.

U štiky je možno použít těchto oplozovacích roztoků :

č. 752 - (7g.l^{-1} NaCl, 0,38g.l^{-1} glycin, 0,24g.l^{-1} tris)
Hamorův - (6g.l^{-1} NaCl, 0,2g.l^{-1} $CaCl_2.2H_2O$, 4,5g.l^{-1} $CO(NH_2)_2$)
Ringerův - (6g.l^{-1} NaCl, 0,075g.l^{-1} KCl, 0,15g.l^{-1} $CaCl_2.2H_2O$, 0,1g.l^{-1} $NaHCO_3$)

Billard et al. (1976) doporučuje použít oplozovací roztok č.532 pod firemním označením "Dilueur 532" (roztok o pH 9, založen na bázi karbonátu - bikarbonátu nebo tris - glycocolu). Vhodnost Ringerova roztoku k prodloužení doby pohybu spermií štiky zkoumal již Dyk (1942), jehož výsledky byly ovšem zkreslené zřejmě chybným naředěním spermatu, takže dospěl k dobám pohybů spermií v Ringerově roztoku kolem 30min. Je možno též použít roztok DIA_{TG} (Billard 1977) o složení : NaCl buferován 0.02 M Trisem a 0.05 glycinem na osmotický tlak 250 mosmol a pH 9. Billard et al. (1983) doporučuje pro štiky použít roztoku o pH 9 s osmotickým tlakem 250-300 mosmol. Spermie ředěné tímto roztokem vykazují pohyblivost a tedy i oplozovací schopnost do 6min od naředění. Používá se 0,5l roztoku na 1l jiker a pro sperma platí ředící poměr 10^{-3}.

Roztoky se připravují na jeden litr vody. Připravené směsi chemikálií v nerozpuštěném stavu se uchovávají v suchu a temnu. Roztok č.752 se musí uchovávat v chladnu. Zásoby připravených směsí se připravují maximálně na jednu výtěrovou sezónu. Směsi se rozpouštějí ve vodě používané k líhnutí jiker a to půl hodiny před užitím k aktivaci spermií a jiker z důvodu dokonalého rozpuštění všech složek. Roztoky se neuchovávají, snahou musí být roztoky spotřebovat ihned, nejpozději pak do 48 hodin po rozpuštění.

Využívání oplozovacích roztoků je nedílnou součástí technologie umělé reprodukce ryb (Linhart, 1985).

Immobilisační roztoky

Nekontaminované sperma močí vytíráme odděleně do zkumavek, odběrných kontejnerů nebo přímo na jikry. U spermatu kontaminovaného močí (sumec, lín, štika, bolen)

odebíráme sperma přímo do immobilisačního roztoku, což je roztok inhibující pohyb spermií a uchovávající jejich fertilitu minimálně po dobu několika hodin. Je nutné dodržovat určitý poměr mezi spermatem a immobilisačním roztokem. U sumce je to např. 1:1 a roztok se skládá z 200mmol NaCl, 30mmol trisu, pH7, tzn. 11,8g NaCl a 3,6g trisu, u lína též 1:1 se složením 180mmol NaCl, 2,7mmol KCl, 1,4mmol $CaCl_2.2H_2O$ a 2,4mmol $NaHCO_3$ (Linhart 2004). U štiky není zatím immobilisační roztok vyvinut.

2.3.8.13.2 Možnosti hormonálního ošetření

Indukce ovulace ♀

Billard et Marcel (1980) se zabývali vyvoláním ovulace u jikernaček štiky pomocí jedné dávky částečně vyčištěného lososího gonadotropinu. Fostier et Jalabert (1982) studovali migrací "pučícího váčku" v dozrávajícím ovocytu po injekci gonadotropního hormonu. Tím samým po hypofyzaci kapří hypofýzou se zabývali Brzuska et Bieniarz (1977). Montalembert et al. (1978) zkoumal efekt různých hormonů (gonadotropní hormony nebo steroidy) "in vivo" při maturaci a ovulaci ještě nezralých jikernaček. "Pučící váček" v "neperiferní" pozici byl kritériem pro počáteční ovocytární stádium. Byly použity dvě gonadotropní přípravy :

1) částečně vyčištěný lososí gonadotropin a HCG
2) dva steroidy (17alfa - hydroxy - 20beta - dihydroprogesteron a 17alfa - hydroxyprogesteron)

Jednoduchá injekce částečně vyčištěného lososího gonadotropinu ($0.1 mg.kg^{-1}$) vyvolala dospění a ovulaci u ještě nezralých jikernaček (iniciační stadium ovocytů: jádro v neperiferní oblasti). Ovulace nastala 4 dny po ošetření (teplota vody : 12°C).

U šesti jikernaček ze čtrnácti nastala ovulace úplná. U zbývajících osmi nastala ovulace částečná, ale vždy přes 50% (průměr 89%). Oplozenost byla ve všech případech vysoká (průměr 83%). Když k ošetření došlo do 24h po zajetí, není možno sledovat výraznější změny v ovulaci či oplozenosti. Když byly ale ryby drženy pod určitými podmínkami v zajetí 3 dny před pokusem, ovulace klesla na 40%. Oplozenost ovulovaných ovocytů nebyla hormony ovlivněna (Montalembert et al. 1978).

Pouvreau et al. (1983) zkoumali efekt jedné injekce částečně vyčištěného lososího gonadotropinu na 122 jikernačkách. Pokusy probíhaly v březnu a těsně před injikací byly stanoveny u každé ryby ovocytární stádia. Zjistili, že kvalita jiker není ovlivněna ovocytárním stádiem při injikaci, ale počet jiker na kilogram ano. Nejlepší výsledky dosáhli u injikace při

"periferním" stádiu ovocytu, ale i tak bylo množství jiker ovulovaných menší (15984 jiker/kg) než při spontánní ovulaci (24716 jiker/kg).

Stimulace spermiace ♂

Hormonální výtažky z lososa, HCG (human chorionic gonadotropin) a různé steroidy podněcují uvolňování spermatu (Yamazaki and Donaldson 1969; Billard 1976). Progesteron je účinnější než androgeny (Billard 1976). U štiky obecné bylo dosaženo spermiace během 24h pomocí hypofyzace (Anwand 1963).

Možnost hormonálního ošetření u mlíčáků štiky zkoumal Montalembert et al. (1978). HCG bylo rozpuštěno v solném roztoku (0.8% NaCl), progesteron a testosteron v čistém ethanolu a sraženy v solném roztoku těsně před injikací (20% ethanolu v injikátu). Objem injikátu byl vždy 1ml.kg^{-1}. Každé dva dny byl měřen objem spermatu s přesností 10 mikrolitrů. Sperma bylo uvolňováno rukou, mírným tlakem na břišní dutinu. V předběžném pokuse se porovnávala účinnost HCG (1.000IU.kg^{-1}), progesteronu (10mg.kg^{-1}), testosteronu (10mg.kg^{-1}) (2 injekce odděleně v průběhu 24h) ve skupinách po sedmi rybách, měřením objemu spermatu daném rybou až do vyčerpání. Ve druhém pokuse se testovaly 3 dávky progesteronu (100, 10, a 1 mg.kg^{-1}, každá injekce odděleně) na třech skupinách po deseti rybách. Kontrolní skupina byla ošetřena solným roztokem. Měřil se objem spermatu a spermatokryt. Schopnost oplození byla zjišťována 2 dny po ošetření (vrchol reakce) inseminací 300 jiker 10 mikrolitry spermatu (ředící poměr 1/1000).

Nejlepší stimulace v uvolňování spermatu bylo dosaženo progesteronem (10mg.kg^{-1}) a to tři dni po druhé injekci. Objem spermatu byl dvakrát takový než při kontrolách a všech sedm ryb reagovalo. S použitím testosteronu (10mg.kg^{-1}) se změny u třech ryb neprojevily a u zbývajících čtyř byly projevy rozdílné. HCG (1.000IU.kg^{-1}) mělo pravděpodobně zpožděný efekt až po deseti dnech (Montalembert et al. 1978).

Ve druhém pokusu vyvolaly vysoké dávky progesteronu (100mg.kg^{-1}) nejlepší reakci. Stimulovány byly všechny ryby a největší odezva (trojnásobný vzrůst) byla zaznamenána 48h po ošetření. Hodnota spermatokrytu nebyla pokusem ovlivněna a osemenění v ředícím poměru 1:1000 vedlo k vysoké oplozenosti (70%). V oplozenosti nebyl velký rozdíl mezi kontrolním vzorkem. S dávkou progesteronu (10mg.kg^{-1}) jenom 5 z deseti ryb reagovalo (2-3xrůst). S dávkou (1mg/kg) byl nárůst zaznamenán jen u 4 zvířat (2-3x) (Montalembert et al. 1978).

Možnosti hormonálního ošetření u štiky zkoumal též Billard et al. (1983). Byly zkoumány účinky částečně vyčištěného lososího gonadotropinu (GSPP), hypofyzární výtažky

z kapra (EHB_C) a čerstvá štičí hypofýza, u všech s kladnou odezvou po jedné injekci. Doba účinku injekce záležela na dávce a pohybovala se od 8-24h. Injekce LH-Rha (D Try^6 des Gly^{10}) neměla žádný efekt. Oplozovací schopnost byla srovnatelná jako bez hormonálního ošetření a přibližně stejná u spermatu testikulárního a ejakulovaného (Billard et al. 1983). Jejich výsledky ukazuje tab.20.

Tab.20. Výsledky hormonálního ošetření u mlíčáků štiky (Billard et al. 1983).

způsob ošetření	ø hmotnost (g)	n.	celk. objem spermatu (µl)	(µl) . kg^{-1}	spermatokryt	doba odezvy (h)
-	270	10	65±55	12	36±18	20
GSPP	212	10	972±341	218	25±9	21
	229	10	368±177	115	25±7	14
	211	10	306±99	145	27±7	10
	228	10	325±195	142	24±10	10
kapří hypofýza EHB_C	252	9	422±277	120	30±9	14
	276	10	339±139	88	31±7	14
	255	10	242±91	68	30±8	14
štičí hypofýza	207	11	540±393	186	32±13	14
LH-RHa	233	9	30±25	19	26±14	7
	203	10	49±25	35	29±13	7
	247	10	41±20	24	29±9	7

2.3.8.13.3 Krátkodobé uchování jiker

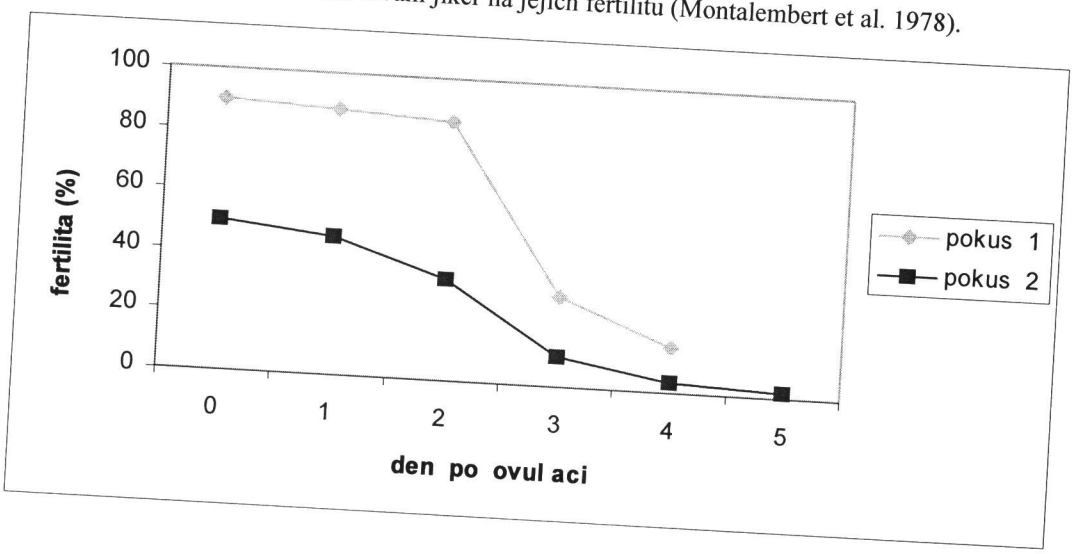
Jikry uchovávané v jikernačce (in vivo) 48h po hormonálně indukované ovulaci byly ještě oplozeníschopné (Marcel et al. 1983; Linhart 2004). Marcel et al. (1983) udává, že je možno jikry uchovávat po dobu 30h při teplotě 4°C ředěné pomocí DIA oplozovacího roztoku. Jikry odebrané od zvířete, které je po smrti, nejeví oplozovací schopnost po 6h. Linhart (2004) udává možnost uchovávat jikry neosemeněné v ovariální plasmě při 4°C po dobu 24-48h se zachováním 80% fertility, ovšem nekontaminované močí, výkaly či vodou.

Montalembert et al. (1978) zkoumal fertilitu jiker používaných k výtěru v různý čas od ovulace. Ve dvou prvních pokusech bylo požito 5 skupin po dvou jikernačkách. Ovulace byla vyvolána pomocí lososích gonadotropních extraktů (0.1mg.kg^{-1}). Ze skupiny 1 se odebralo od každé jikernačky 1000 jiker ve dni ovulace a oplodněno pomocí spermatu 10 mlíčáků. Sperma bylo ředěno technikou popsanou dále (ředící poměr 1/1000). Jikry byly inkubovány v jemném síťovém žlabu při teplotě 12°C. Ta samá metoda byla použita u skupiny 2, ale až jeden den po ovulaci, u skupiny 3 až 2 dny po ovulaci atd. u ostatních skupin. Hodnoty oplození byly zjišťovány jako množství embryí vždy třetí den po oplození (tj. asi po 40°d). Druhý pokus se prováděl se sedmi jikernačkami drženými při konstantní teplotě 13°C. Ovulace byla vyvolána malou dávkou pstružích gonádotropních extraktů doplněných ještě za

24h 3mg.kg^{-1} 17alfa - 20beta P. Od každé jikernačky se odebralo 400 jiker ve dni ovulace a v dalších 5 dnech. Inseminace probíhala za použití spermatu od 10ti různých mlíčáků. Oplozenost jiker byla zjišťována při líhnutí.

V prvním pokuse, kde se každá jikernačka zkoušela jen jednou, nebyly během 48h po ovulaci zaznamenány významnější změny (oplozenost v 40°d : 90 a 85%). Třetí den po ovulaci oplozenost rychle klesla na 30%, viz graf 2. Ve druhém pokuse, kdy každá jikernačka se testovala každý den po dobu šesti dnů se výraznější změny vyskytly o jeden den dříve (den 2, graf 9). Střední oplozenost (50%) byla ve dni 0, kdy převládalo přirozené hormonální působení. Oplozenost se zjišťovala při líhnutí (Montalembert et al. 1978).

Graf.9. Efekt "in vivo" uchovávání jiker na jejich fertilitu (Montalembert et al. 1978).



2.3.8.13.4 Krátkodobé uchování spermatu

Marcel et al. (1983) udává, že se štičí spermie mohou uchovávat po dobu 22h při 4°C a až 27h při naředění roztokem bohatým na draslík. Spermie odebrané ze zvířete, které je po smrti, nejeví oplozovací schopnost po 8h (Marcel et al). Linhart (2004) udává, že u ryb, kde se vždy vyskytuje při výtěru moč, je nutnost odebírat sperma do immobilisačního roztoku, jehož složení u štiky zatím není známo.

U usmrcených či čerstvě uhynulých mlíčáků vyoperujeme testes, zbavíme testes krve (krevní plasma je významný inhibitor pohybu spermií) a uchováváme v aerobním prostředí v petriho misce po dobu až 48h při teplotách 0-2°C. Před osemeněním vyextrahujeme sperma z testes přes uhelon či jemný nylon. Před použitím provedeme kontrolu pohybu spermií (Linhart 2004).

2.3.8.13.5 Zmrazování spermatu

U několika rybích druhů, zvláště pak u lososovitých, je oplození jiker zmraženým spermatem úspěšné (Scott et Baynes 1980; Stoss 1983; Piironen 1993). Problémy však spočívají v individuálních rozdílech jednotlivých mlíčáků v kvalitě spermatu před zmražením (Baynes et Scott 1987). Jako rozhodující kvalitativní parametry zmrazovaného spermatu u lososovitých se jeví iontové složení, osmolalita, pH semenné plasmy a rychlost spermií (Aas et al. 1991; Lahnsteiner et al. 1996). U štiky je nejdůležitějším ukazatelem úspěšného zmrazení spermatu pohyblivost spermií po rozmrazení (Babiak et al. 1995). Jako ukazatele oplozenosti zmrazeným spermatem jsou koncentrace enzymů : AspAT a Acp (acidická fosfatáza) (Glogowski et al. 1996).

Postup při zmrazování spermatu kapra, sumce, lína a veslonosa amerického popisuje Linhart (2004). U sumce a lína je problém s kontaminací spermatu močí, stejně jako u štiky, takže se sperma musí odebírat přímo do immobilisačních roztoků, viz. kapitola o immobilisačních roztocích. Sperma je třeba uchovávat při teplotě 0°C a v aerobním prostředí, nejlépe v poměru 1:20 (Linhart 2004). U kapra 2-4h po odběru se sperma ředí roztokem Kurokura (130mmol NaCl, 2,7mmol KCl, 1,4mmol $CaCl_2.2H_2O$, 2,4mmol $NaHCO_3$) v poměru 1:5 a po 40min se přidává kryoprotektivum. U veslonosa amerického se ředí sperma v poměru 1 : 1 s 100mmol sacharózou a po 1h se přidává kryoprotektivum. Nutnost ředění je v důvodu vnesení stabilizačních látek, např. cukrů s kryoprotektivními účinky nebo sodíku snižující aglutinaci spermií. U ryb nemají ředidla účinnost vnesení vnějších energetických látek. Ředění je nutné ke snížení počtu spermií na řádově miliardy v mililitru.

Jako kryoprotektiva se používá u kapra 10% DMSO, u sumce 8% DMSO, u lína 1 díl 4% propandiolu a 1 díl 4% DMSO, u veslonosa 8% methanol (Linhart 2004). Kryoprotektivum velmi rychle pronikne do buňky, vytlačí vodu. Jeho funkcí je usměrnění krystalů při krystalizaci s jednotnou strukturou a orientací, čímž se snižuje roztrhání buněk. DMSO je nevhodné kryoprotektivum u spermií s akrozomem. Ekvilibrace (čas na vyrovnání vnějších a vnitřních podmínek v buňce) po ředění immobilisačním roztokem u sumce je 5h, u lína 3h, u kapra po ředění Kurokurou 40min. Důvodem je zlepšení energetické stránky spermií (Linhart 2004).

Při zmrazování platí, že čím je menší objem zmrazované látky, tím je lepší výsledek. Nejčastěji se zmrazují objemy spermatu 1-4ml. Zmrazování může být postupné, či rychlé, takřka bez krystalizace, tzv. vitrifikace. Zmrazuje se nejčastěji na teplotu kapalného dusíku, tzn. -196°C.

Zmrazováním spermatu u štiky se zabýval Montalembert et al. (1978). Kapka spermatu byla naředěna ředícím prostředkem DIA_{TG} (roztok NaCl buferován 0.02 M Trisem a 0.05 glycinem na osmotický tlak 250 mosmol a pH 9 (Billard 1977)) a pohyblivost klasifikována stupnicí o pěti stupních dle Emmens (1947) a Jaspers (1972). Aktivita spermií byla definována jako doba (v min.), kdy se spermie svým pohybem daly zařadit do uvedených pěti stupnů. Oplozovací schopnost čerstvých spermií byla testována na 300 jikrách pomocí ředění 1/100 spec. ředící technikou, viz Montalembert et al. (1978), stanovena pak při 40°d.

Zmrazovalo se 50mikrolitrů spermatu mícháno s V_2 přídavkem popsaného Steinem (1977) : 750mg NaCl; 250mg $NaHCO_3$; 53mg $Na_2HPO_4.2H_2O$; 23mg $MgSO_4.7H_2O$; 38mg KCl; 46mg $CaCl_2.2H_2O$; 100mg glukózy; 500mg glycine; 20% vaječného žloutku; 10% dimethyl sulfoxid; 100ml H_2O.

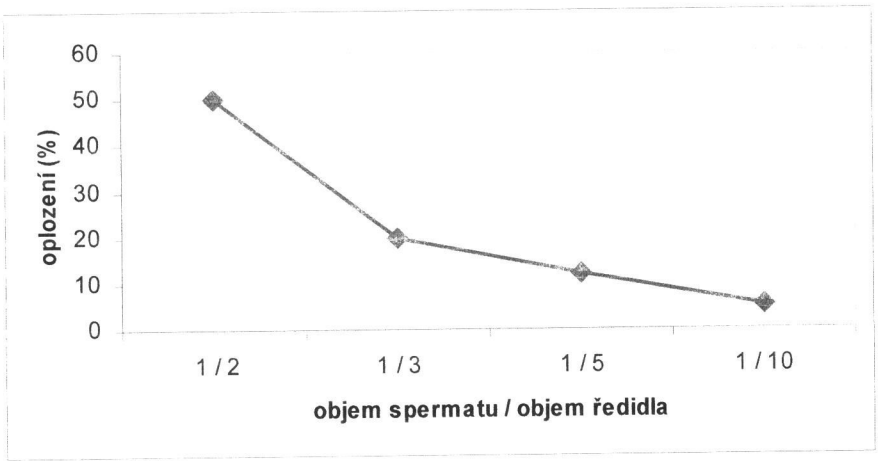
V prvním pokuse bylo mícháno sperma od deseti mlíčáků ve čtyř různých poměrech k V_2 (1/2;1/3;1/5;1/10). Naředěné sperma se dávalo do rovnováhy v ledové tříšti po dobu 5 minut a byla zjišťována absence pohybu spermií. Vzorky byly poté nakapány na suchý led (-79°C) a dány do kapalného dusíku (-196°C). Po sedmi dnech v kapalném dusíku byla odhadnuta pohyblivost a aktivita spermií v DIA_{TG}. Za účelem odhadu oplozovací schopnosti se nechalo sperma roztát přímo v DIA_{TG} , kde byly též přítomny jikry. Ve druhém pokuse bylo sperma od deseti mlíčáků individuálně zamrazeno (ředěno 1/2) a testováno na fertilitu stejně jako v předchozím případě (Montalembert et al. 1978).

Při zmrazování spermatu dával nejlepší výsledky ředící poměr 1/2, viz graf 10. V tab.21. jsou shrnuty výsledky u deseti vzorků - je zaznamenána pohyblivost, aktivita a oplozovací schopnost. Osm vzorků ukázalo rozdílné výsledky v oplozenosti (1%-68%), přičemž u dvou vzorků byla životaschopnost spermií úplně nulová.

Tab.21. Efekt zmrazení spermií štiky na jejich pohyblivost, aktivitu a oplozovací schopnost (Montalembert et al. 1978).

poř. č.	čerstvé sperma			rozmrazené sperma		
	pohyblivost v DIA_{TG}	aktivita (min)	oplozenost (%)	pohyblivost v DIA_{TG}	aktivita (min)	oplozenost (%)
1	4	1,50	76	3	0,50	50
2	4	1,75	50	2	0,75	48
3	4	2,25	75	0	0	0
4	3	2,25	72	1	0,15	1
5	4	1,75	80	2	0,80	66
6	3	2,50	70	2	0,35	14
7	4	2,75	84	0	0	0
8	5	2,50	82	3	0,75	68
9	4	1,75	72	1	0,25	5
10	5	2,25	74	2	0,15	11

Graf.10. Efekt ředícího poměru na oploz. schopnost spermií po rozmrazení (Montalembert et al. 1978).



Efekt individuálních rozdílů u 10 mlíčáků štiky na zmrazování spermatu zkoumal Babiak et al. (1997). Sperma bylo odebráno do stříkaček a necháno na ledu (0-4°C) po dobu 2-3h před dalším ošetřením. Motilita spermií byla hodnocena subjektivně pomocí mikroskopu v 120mM NaCl, koncentrace spermií stanovena pomocí Bűrkerovy komůrky dle Babiak et al. (1995). Od každého mlíčáka bylo odebráno sperma a jako reprezentativní vzorek vzato 0,1ml. Každý vzorek se naředil v poměru 1 : 3 s roztokem předem chlazeným (0-4°C) o složení 0,29g $CaCl_2.H_2O$; 0,4g $MgCl_2.6H_2O$; 0,5g Na_2HPO_4; 5,1g KCl; 11,7g NaCl; 0,2g kys. citrónové, 20g glukosy; 1,27g KOH; 5,3g bicinu; $2dm^3$ destilované vody; 10% kuřecího žloutku (objemově); 10% DMSO (objemově) (Erdahl et Graham 1980, pozměněno Babiak et al. 1995). Ihned po naředění byly vzorky nakapány do jamek na suchém ledu (pevný CO_2, -79°C). Po 5 minutách se vzorky přenesly do kapalného dusíku (-196°C). Proces zmrazování byl tedy ukončen do 30 minut od odebrání spermatu (Babiak et al. 1997).

Po 11 dnech uchovávání v kapalném dusíku se přikročilo k oplozování jiker, odebraných od jedné jikernačky 2h před rozmražením spermatu a ponechaných při 13°C. Sperma bylo rozmraženo v 10ml 120mM NaCl (30°C) a přelito vždy na dávku asi 1000 jiker, aby byl udržován poměr zhruba $3x10^6$ spermií na jikru. Každá dávka jiker byla předem naředěna 10ml opozovacího roztoku dle Billard (1992) o složení 0,9%NaCl a 1mM Ca^{2+}, buferován 20mM trisu, 30mM glycinu na pH 9. Kontrolní dávka byla oplozena spermatem smíchaným od tří mlíčáků (90% pohyblivých spermií, koncentrace spermií $21,5x10^9 ml^{-1}$, $3x10^6$ spermií / jikru). Oplozené jikry byly inkubovány ve vodě o teplotě 12-14°C do stádia očních bodů (Babiak et al. 1997).

Výsledky Babiaka et al. (1997) shrnuje tab.22. Nebyla nalezena korelace mezi motilitou čerstvých spermií a rozmražených spermií ve vztahu k úspěšnosti oplození.

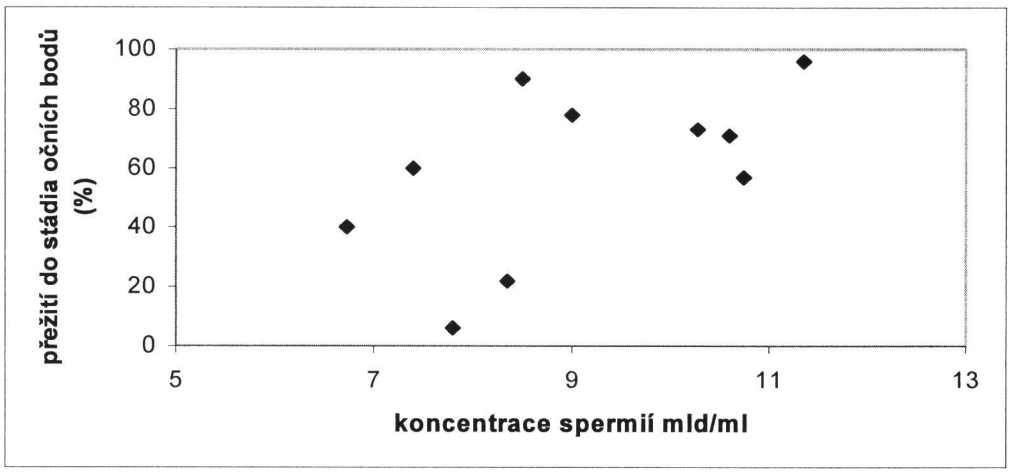
Koncentrace čerstvých spermií byla mezi $6,8x10^9$ a $11,3x10^9$/ml. Kontrolní vzorek vykazoval přežití do očních bodů 96%. Byl ale nalezen pozitivní vztah mezi koncentrací spermií v čerstvém spermatu a přežitím do stádia očních bodů, viz graf. 11. (Babiak et al. 1997).

Tab.22. Hodnocení zmražení spermatu štiky, individuální rozdíly u 10 mlíčáků (Babiak et al. 1997).

poř. č.	pohyblivost spermií %		počet spermií na jikru $x10^6$	přežití do stádia očních bodů %
	čerstvé sperma	rozmražené sperma		
1	90	20	3,06	96,0
2	60	15	2,99	22,7
3	85	25	2,95	57,4
4	90	10	2,96	60,3
5	90	40	2,91	53,2
6	90	30	3,07	78,0
7	90	15	2,94	39,6
8	85	15	2,97	73,7
9	85	10	2,96	6,6
10	90	35	2,95	89,6
směs	90	30	2,94	71,8

Babiak et al. (1997) zkoumal též před a po zmražení aktivitu enzymů AspAT a AcP jak ve spermiích, tak v semenné plasmě. Aktivita AspAT byla stanovena fotokolorimetricky podle Reitman et Frankel (1957) a aktivita AcP podle metody dle Bessey et al. (1946). Aktivita AspAT a AcP v čerstvém spermatu je vyšší ve spermiích než v semenné plasmě. Po zmrazení aktivita zmíněných enzymů v semenné plasmě výrazně stoupá, naopak ve spermiích klesá. Zmrazování a rozmrazování vyvolává narušení buněčných membrán se ztrátou proteinů (Billard 1983; Lahnsteiner et al. 1992).

Graf. 11. Vztah mezi koncentrací spermií v čerstvém spermatu a přežitím do stádia očních bodů po oplození jiker rozmraženým spermatem (Babiak et al. 1997).



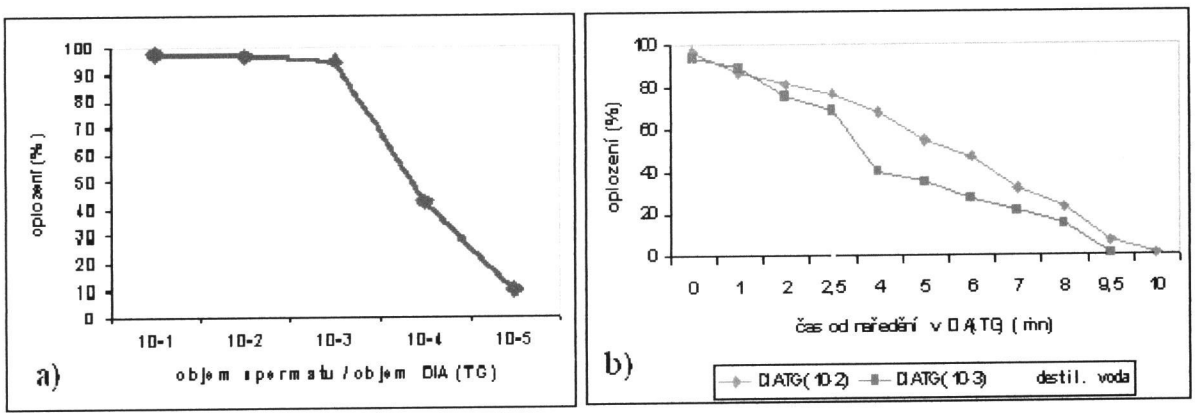
2.3.8.13.6 Umělá inseminace za použití speciální ředící techniky dle Montalembert et al. (1978)

Ovulace byla vyvolána jednou injekcí částečně vyčištěného lososího gonadotropinu (Montalembert et al. 1978). Jikry i sperma bylo odebráno opatrně ručně (jemným tlakem) za suchých podmínek. Jikry od několika jikernaček se smíchaly dohromady a byly rozděleny do dávek po 300 jikrách. Sperma od deseti mlíčáků se testovalo na motilitu a poté smíchalo dohromady. Kontrolní dávky byly osemeněny klasickou suchou cestou.

Každá pokusná dávka (300 jiker) byla ředěna 10ml DIA_{TG} a hned osemeněna. Složení DIA_{TG} bylo následující (Billard 1977) : roztok NaCl buferován 0.02 M Trisem a 0.05 glycinem na osmotický tlak 250 mosmol a pH 9. Různá množství spermatu (100mikrl, 10mikrl, 1mikrl, 0.1mikrl; ředění : 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}) se použila pro první pokus. Jikry se nechaly 15 minut po osemenění stát, poté se přelily do jemně síťovaného žlabu, kde probíhala inkubace při 12°C čtyři dny. Potom se jikry pročistily v Stockardově roztoku a stanovily se míry oplozenosti jako procenta embryí při 40°d. Ve druhém pokusu bylo sperma předředěno v DIA_{TG} (1/100 nebo 1/1000) nebo v čisté vodě (1/1000) během různých intervalů (1,2,4,8,16 min) a poté smícháno s jikrami.

Oplozenost zůstala na maximálních hodnotách (94-98%) s ředěním 10^{-1} až 10^{-3} a klesala při 10^{-4} na 41% a při 10^{-5} na 10%, viz graf. 12 a). Kontrolní (suchou cestou) bylo oplození 75%. Když bylo před osemeněním čerstvé sperma ředěno v DIA_{TG}, oplozenost byla stále 80% po dvou minutách a po osmi minutách 15-25%, viz graf. 12 b). V čisté vodě oplozenost po 1 minutě klesla na 25% a po 2.5 minutách již nebyla žádná.

Graf.12. a) Efekt ředění spermatu na oplození (Montalembert et al 1978).
b) Oplozovací schopnost spermií po ředění v DIA_{TG} v záv. na čase Montalembert et al. (1978).



2.3.8.14 Vývoj nového jedince

Při stálé teplotě 10°C se embrya z jiker líhnou za 12 dnů (=120°d), při teplotě 14-20°C za 5-5,8 dne, Swift (1965). Podle Lillelunda (1967) se při teplotě 5,8°C líhnou za 30,9 dne a při 18°C za 4,7 dne. Při přepočtu na denní stupně se při teplotě 8-10°C uvádí 110-130°d (Georges 1964; Lusk et Krčál 1982). Linhart (2004) uvádí 120°d nutných k vykulení embrya.

Embryonální perioda začíná oplozením. Po oplození dochází k zvětšení perivitelinního prostoru (nabobtnání jiker) a ke zformování blastodisku, který se postupně začne rýhovat a dělit. Vytvoří se drobnobuněčná morula, která přejde ve stádium blastuly. Při 30-35°d začíná probíhat gastrulace, která se dokončuje asi při 40-45°d. V tomto období dochází ke značným ztrátám na jikrách. Postupně se začíná formovat embryo, vzniká nesegmentovaný zárodek, postupně se objevují myotomy, formují se základy očí, mozku. Při 60°d se formuje canalis centralis, zvětšuje se hlavová část, narůstá mozek a oči. V dalším vývoji se tělo zárodku štiky dále zvětšuje a postupně se začíná prohýbat nad žloutkovým váčkem (65°d). V období 70-90°d se postupně hlavová a ocasní část embrya odděluje od žloutkového váčku, zárodek objímá v té době asi 4/5 obvodu žloutkového váčku. Objevuje se pigmentace oka (stádium očních bodů), vrcholu hlavy a žloutkového váčku. Vytváří se krevní systém, který začíná pracovat, krev je prozatím bezbarvá. Objevují se otolity a v somitech se diferencují svalová vlákna. Zakládají se další orgány jako plynový měchýř, aj. Při 100°d konec ocasní části zárodku sahá až pod oko, dále se rozšířila pigmentace těla zárodku. Funguje krevní oběh, formuje se základ zažívacího traktu. Zárodek se začíná pohybovat a obracet, objevují se základy prsních ploutví, v kaudální části těla je nepárový ploutevní lem. Při 110-120° začíná líhnutí zárodků z vaječných obalů. Vylíhlé embryo je dlouhé 7-9mm, má diferencované pouze prsní ploutve. Schäperclaus (1961) uvádí délku 8,5-9mm, Linhart (2004) udává 7-9mm. Ústa ani žábra nejsou ještě prolomeny. Na přední části hlavy je papila, která slouží k přilepení zárodku na vodní rostliny (Čihař 1956). Ten se zavěšuje několik hodin po vylíhnutí. Postupně se začínají prolamovat ústa, rozšiřuje se pigmentace, objevují se základy žaberních štěrbin, dochází k postupné redukci - strávení žloutkového váčku. Embrya občas trhavě volně plavou, jinak jsou zavěšeny nebo leží na dně (2.-3. den po vykulení). V dalších dnech (3.-6. den od vykulení) dochází postupně ke strávení žloutkového váčku, vyvíjí se svalovina, zvětšuje se ústní otvor, vytváří se skřele a začíná dýchání žábrami, končí zavěšování larev a začíná příjem potravy z vnějšího prostředí. Nový jedinec štiky končí embryonální periodu vývoje a přechází do larvální periody (Lusk et Krčál 1982). Resorpce

žloutkového váčku trvá obvykle 5-10 dnů (Wurz 1945), Linhart (2004) udává 6-10 dnů nutných k přechodu na vnější výživu.

Larvální perioda : Larvy přijímají vnější potravu, aktivně se pohybují ve vodě. Postupně je stráven a zaniká žloutkový váček (8.-12. den po vylíhnutí), ploutevní lem se redukuje a vytváří se nepárové ploutve. Postupně se vytváří i horní čelist, zakládají se prsní ploutve (okolo 15.dne). V dalším období dochází již k růstu larvy, vznikají ploutevní paprsky, zcela zaniká ploutevní lem. Růstově dochází mezi jednotlivými jedinci k diferenciaci. Při velikosti 30-35mm se zakládají první šupiny v ocasní části těla nad bází řitní ploutve. Tím končí larvální perioda vývoje a jedinec, který má již podobu malé štičky, přechází ve svém vývoji do další periody. Intensita vývoje v embryonální i larvální periodě je zásadně určována teplotou vody (Lusk et Krčál 1982).

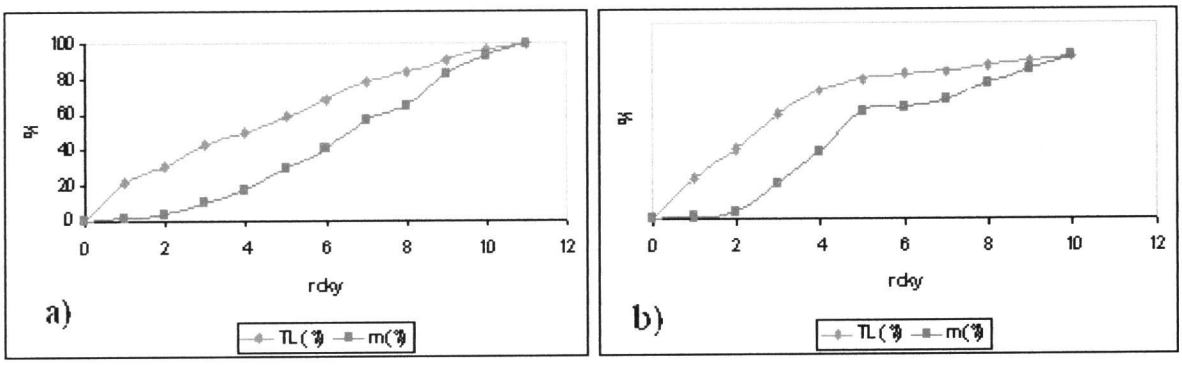
Juvenilní perioda : Začíná 20.-30. den po vykulení jedince, jsou založeny první šupiny, které postupně pokrývají celé tělo. Je ukončena diferenciace jednotlivých orgánů a v dalším období této periody probíhá růst těla a jednotlivých orgánů. Juvenilní perioda končí aktivací pohlavních orgánů - stavem pohlavní dospělosti. Pohlavní buňky se vyvíjejí a rostou, jedinec se aktivně zúčastní nejbližšího rozmnožovacího období.

Adultivní perioda : Začíná pohlavní dospělostí jedince a je charakteristická každoroční účastí jedince na rozmnožovacím procesu. V průběhu této periody probíhá další růst jedince, při čemž postupně převládá intensita hmotnostního růstu nad růstem délkovým. Tato perioda je z časového hlediska u štiky nejdelší, může trvat 10-20 let, v průměru je to však v našich podmínkách 8-12 roků (Lusk et Krčál 1982).

Senektivní perioda : Příznaky stárnutí se projevují především v oblasti funkcí rozmnožovacích. Snižují se reprodukční schopnosti jedince, klesá kvalita pohlavních produktů. Postupně se snižuje odolnost organismu, zhoršuje se kondiční stav jedince tak, že dojde k přirozenému úhynu jedince (Lusk et Krčál 1982).

V graf.5. a 6. jsou znázorněny dva příklady hmotnostního i délkového růstu štiky v % celkové váhy a délky, v graf.13a. je růst štiky z ÚN Husinec a v graf. 13b. štiky z ÚN Kníničky.

Graf.13. a) Závislost hmotnostního a délkového růstu v % u štiky z ÚN Husinec, Poupě (1980).
b) Závislost hmotnostního a délkového růstu v % u štiky z ÚN Kníničky, Lusk et Krčál (1982).



2.3.8.15 Početnost a produkce populace

Stanovení a znalost početnosti druhu v prostředí, kde žije, je velmi významný předpoklad pro jeho další optimální využití. Ve volných vodách nemůžeme vodu vypustit jako v rybnících a obsádku ryb vylovit a spočítat. Ke stanovení či odhadu početnosti určitého druhu ryb se proto používají jiné poměrně pracovně náročné postupy založené na různých předpokladech a principech, viz. Holčík et Hensel (1972). Stanovení početnosti štiky ve volných vodách a zejména ve velkých nádržích je vzhledem k biologii a chování tohoto druhu značně obtížné a náročné. Vždy se bude jednat o více či méně přesný odhad. Vostradovský (1969) se pokusil o odhad početnosti a biomasy štiky v ÚN Lipno a uvádí následující hodnoty : r.1963 - 80ks a 30kg.ha^{-1}, r.1964 - 19ks a 18kg.ha^{-1}, r. 1965 5ks a 5kg.ha^{-1}. Holčík (1970) odhadl stav populace štiky v ÚN Klíčava v r.1964 na 3ks a 2,3kg.ha^{-1} vodní plochy.

Určitý i když nepřímý obraz o stavu populace a výši vytvářené produkce štiky v konkrétním vodním prostředí nám může poskytnout i výše dosahovaných úlovků, neboť štika je poměrně snadno ulovitelná na udici. Podle Vostradovského (1969) byl na ÚN Lipno největší úlovek štiky dosažen v r.1960 - 11,4kg.ha^{-1} a v r.1961 - 15,0kg.ha^{-1}. V dalších letech došlo k podstatnému poklesu úlovku štiky a to na 2-6kg.ha^{-1}. Ve většině údolních nádrží se udržuje roční úlovek štiky na úrovni 2-10kg.ha^{-1}. Příklady úlovků z ÚN jsou v tab. 23.

Zejména v prvních letech existence nových nádrží může populace štiky dosáhnout velmi vysokých hodnot, což se projevuje i v úlovcích po zahájení rybolovu. Uvedené hodnoty o těžbě štiky ukazují, že početnost, biomasa a tedy i produkce štiky může za určitých okolností dosáhnout velmi vysokých hodnot, při čemž se však jedná o záležitost poměrně krátkodobou (2-4 roky). Potom dochází k poklesu populace a jejímu ustálení na úrovni, která odpovídá populační a produkční kapacitě konkrétního vodního biotopu. Pokles početnosti populace by nastal i v tom případě, že by se na něm nepodílel rybolov. Při vysoké početnosti populace se uplatňují a vytváří vysokou úmrtnost samoregulační faktory - kanibalismus a

zejména onemocnění, z nichž zejména tzv. *skvrnitost štik* obvykle omezuje početnost u vysokých populací štiky (Lusk et Krčál 1982).

Tab.23. Úlovky štiky v údolních nádržích (Lusk et Krčál 1982).

místo	rok	úlovek štiky	
		ks	kg.ha^{-1}
ÚN Vranov	ø 1971-1980	2,4	5,3
ÚN Kníničky	ø 1971-1980	1,8	3,6
ÚN Vír	ø 1971-1980	1,8	3,5
ÚN Pilská	ø 1970-1980	6,0	9,9
ÚN Slapy		0,2	0,5
ÚN Orlík		0,5	1,2
ÚN Jordán		1,9	3,6
ÚN Dalešice	1979	25	56,2
ÚN Dalešice	1980	8,2	16,1
ÚN Hracholusky		4,0	8,0

Početnost populace štiky a produkce, kterou vytváří, je dynamický souhrn procesů určovaných a podmiňovaných řadou činitelů, z nichž část v podstatě nemůžeme určovat či ovlivňovat, ale jiné naopak jsou v našich rukou. Znalost jednotlivých činitelů a jejich působení na populaci štiky v rybářském revíru je významným předpokladem k optimálnímu obhospodařování tohoto cenného druhu. Patří k nim zejména :

Členitost prostředí - množství úkrytů je u štiky vzhledem k jejímu způsobu života a chování (stanovištnost a hájení životního okrsku - teritoria) jedna z nejdůležitějších podmínek určujících početnost populace. Štika osídluje zejména příbřežní zónu, kde nachází úkryty - zatopená křoviska, kameny, kmeny stromů, pařezy, porosty vodních rostlin apod. Členitost a úkryty pro štiku lze vytvářet a budovat i záměrně.

Množství potravy je dalším významným faktorem určujícím početnost a produkci populace štiky.

Podmínky pro přirozené rozmnožování hrají významnou úlohu a mají podstatný vliv na početnost populace štiky. V průběhu let došlo zejména u vodních toků k podstatnému zhoršení podmínek pro úspěšné přirozené rozmnožování štiky a to hlavně prakticky odstraněním jarních záplav v inundačních územích dolních toků větších řek. Tak např. v oblasti dolního toku Dyje a Moravy na jižní Moravě každoroční záplavy rozsáhlého inundačního území poskytovaly obrovský počet násad štiky pro udržování vysoké početnosti populace tohoto druhu v uvedené oblasti. Po jejich zániku tam došlo k poklesu úlovku o 6000ks a 11t ročně. Rovněž u velkých nádrží jsou vhodné podmínky pro přirozené rozmnožování pouze první 2-3 roky po jejich napuštění. Později po vyhnití travních porostů zatopených vodou jsou podmínky pro přirozený výtěr štiky v těchto nádržích velmi

nepříznivé. Jedinou cestou jak nahradit neúspěšnost přirozeného rozmnožování je umělý chov násad štiky do volných vod v maximálním množství.

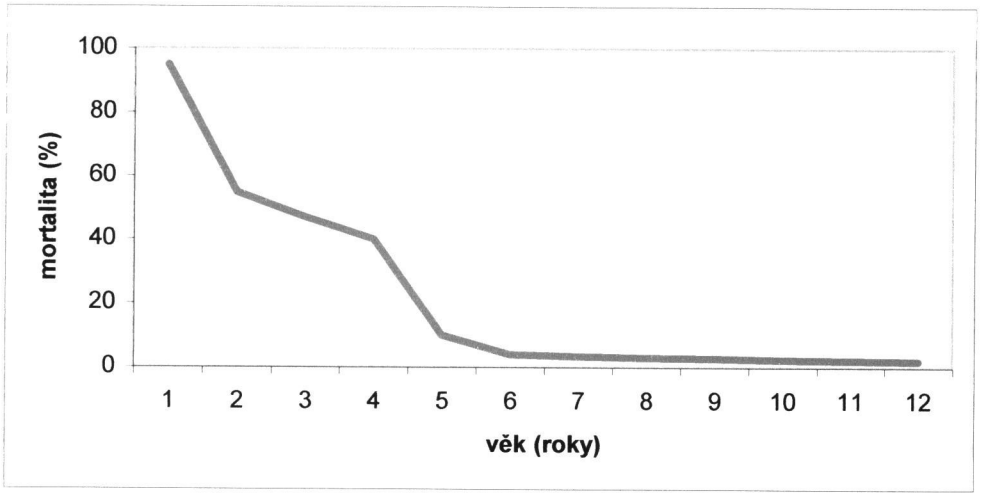
Věková skladba s autoregulačními mechanismy populace jsou další velmi významné vlivy, které v podstatě u přirozených populací a tedy i ve volných vodách významně přispívají k určování početnosti a produkce populace štiky. Každá populace štiky má v určitém vodním biotopu určitou hranici početnosti a tedy i produkce. Pokud dojde k jejímu překročení, uplatní se autoregulační mechanismy a dojde ke snížení početnosti populace odpovídající kapacitě prostředí. Vysoká početnost štiky u nově napuštěných nádrží je stav dočasný, vznikající jako důsledek souhrnu optimálních podmínek pro rozmnožování štiky, úspěšnost výtěru a odrůst plůdku, přemnožení potravy, minimum nepřátel, uplatnění 1-2 ročníků, kterév podstatě tvoří populaci štiky v nádrži. V dalších letech dochází ke stabilizaci podmínek v nádrži, upravuje se věková skladba populace a podstatně klesá početnost a biomasa populace.

Vysazování a odlov štiky tvoří další faktory ovlivňující početnost populace štiky v rybářských revírech.

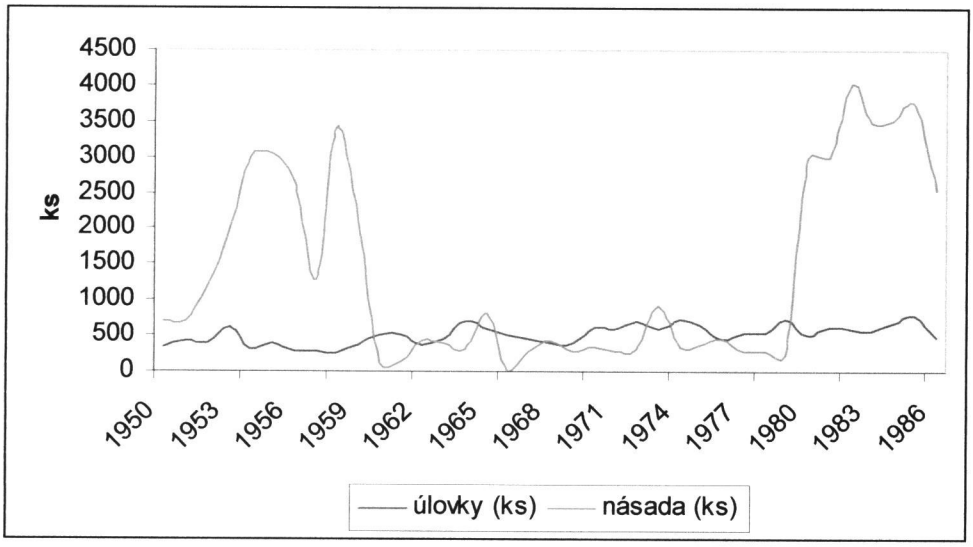
Mortalita - úmrtnost štiky je výsledkem působení celé řady činitelů, významně formuje početnost a věkovou skladbu populací štiky ve volných vodách. Jako přirozená úmrtnost se označují ztráty - úbytek vznikající v důsledku působení nepříznivých vlivů vodního prostředí, vlivem nepřátel, kanibalismus, choroby a onemocnění aj. Přirozená úmrtnost je nejvyšší u nejmladších věkových kategorií a to počínaje vytřenými jikrami, přes váčkový plůdek až do stáří jednoho roku. U starších jedinců jsou přirozené ztráty podstatně nižší. Úmrtnost štiky sledovali např. Balon (1965), Holčík (1968) nebo Vostradovský (1969).

Podrobné údaje o struktuře populace štiky získal Munro (1957) vytrávením jezera Loch Choin. Věková třída 0. činila 76,8%, I. 12,7%, II. 5,6%, III. 1,2%, IV. 0,5%, posléze VIII 0,1%. Z našich autorů se úmrtností a přežíváním štik v Oravské, Klíčavské a Lipenské údolní nádrži zabývali Balon (1965), Holčík (1968) a Vostradovský (1969). Všeobecně byla zjištěna v průměru vyšší úmrtnost samic než samců. Celková úmrtnost byla ovlivněna mírou exploatace a zdravotním stavem ryb. Míra úmrtnosti 50-85% (Lipno a Orava) svědčí o vysoké exploataci, pod 50% (Klíčava) o málo exploatovaných vodách (vodárenské nádrže se zákazem rybolovu). V průtočné zdrži Murphy uvádí Snow (1974) celkovou úmrtnost 60%, ale u vysazených ryb (během prvéhovroku života) 90%. Z osmiletých výsledků pozorování Grimma (1983) vyplývá, že hustota populace menších štik je limitována predačním tlakem. Populace štik menších než 41cm je zcela určována biomasou větších štik a ani intenzivní vysazování malých (4-6cm) štik již početnost nezvýší (Baruš et Oliva, 1995).

Graf. 14. Příklad průběhu mortality u populace štiky v rybářském revíru. Do stáří 1 roku vysoká přirozená mortalita, naopak ve stáří ±4 roku vysoká "rybářská" mortalita (Lusk et Krčál 1982).



Graf.15. Úlovky a násada ročků štiky od r.1950 na rybářském revíru Otava 2 v ks (zdroj : RS Písek).



2.3.9 Choroby a cizopasníci

Z českých autorů se chorobami u štiky obecné zabýval např. Dyk (1961), Lucký (1978), Havelka et Tesarčík (1973), Ergens (1964), Ergens et Lom (1970).

Puchýřnatost - postihuje i další druhy ryb. Původcem je virus, kterým se ryby infikují z vodního prostředí přes zažívací trakt, žábrami a kůží, včetně přenosu různými parasity. Za významné podmiňující faktory vzniku onemocnění u ryb je možno považovat nedostatek vápníku ve vodě, nižší hodnoty pH - kyselá voda, nedostatek vitaminů v potravě, poškození a oslabení ryb. Virus vyvolává především chorobné bujení epidermálních buněk, které postupně zachvacuje velkou část tělního povrchu i ploutve. Postižená místa kůže i ploutví vynikají nad

své okolí, mají šedobílou barvu, jejich povrch je většinou hladký. Zbujelá pokožka se nechá odloupnout (Lusk et Krčál 1982).

Vibrióza - patří mezi bakteriózy a postihuje i ostatní druhy ryb. Původcem je bakterie Vibrio anguilllarum. Za podmiňující faktory je možno považovat vody s vyšším obsahem solí, dále oslabení ryb a oteplení vody (duben, květen). K infekci dochází zažívacím traktem nebo povrchem těla. Při akutním průběhu onemocnění dochází k zánětům kůže hlavně na bocích a břišní části, v okolí základů ploutví, okolo řitního otvoru a na žaberních víčkách, záněty zasahují i vnitřnosti v břišní dutině. Později vznikají abcesy, vředy a kožní erose (Lusk et Krčál 1982).

Skvrnitost (erytrodermatitis) - původcem je zřejmě bakterie rodu Aeromonas (Baruš et Oliva 1995). K infekci ryb dochází mechanicky či cizopasníky poškozeným povrchem těla. Vedle pathogenního prvku je vzplanutí tohoto onemocnění u štik podmíněno i dalšími faktory jako např. fyziologické aspekty a to zejména v souvislosti s jejich rozmnožováním, kondiční oslabení a manipulace s rybami (sádkování, lovení, převozy. Skvrnitost štik postihuje zejména pohlavně dospělé samce a samice. Na začátku tohoto onemocnění kůže vypadá jakoby odřená s ohraničenými záněty na houběji poškozených okrescích kůže. Záněty se rozšiřují plošně i do hloubky, v dalších fázích vznikají nejčastěji ploché vředy a boláky. V rozvinutém stádiu onemocnění dochází i k obnažení svaloviny a jejímu narušení (např. perforace stěny tělní dutiny), dochází k hromadění tekutiny v tělní dutině, zježení šupin atd. Pokud jsou ryby v dobré kondici, je možné uzdravení a postupné zajizvení ran. Toto onemocnění propuká nejčastěji na jaře, kdy jsou ryby po tření poškozeny. U nás dochází k onemocnění štik skvrnitostí a následně značným ztrátám ve volných vodách, kde populace štiky dosahuje vyššího stavu.

Branchiomykóza - žaberní hniloba. Vyskytuje se hlavně v prostředí vysoce eutrofních rybníků. Původcem je plíseň Branchiomyces sanguinis resp. B. demigrans. Ze spor, která se při dýchání ryb zachytí na žábrech, vyklíčí v krevním oběhu žaber plísňová vlákna, která při intensivním růstu ucpávají krevní systém a tak vyřazují zachvácenou část žaber z funkce. Optimální podmínky pro propuknutí choroby jsou při teplotách vody nad 20°C, při vysokém organickém zatížení vody, nízkém množství rozpuštěného kyslíku a při nedostatku mědi v rybničním dně (Lusk et Krčál 1982).

Saprolegnióza - vytváří ji druhy rodu Saprolegnia a Achlya a jedná se o plíseň. K infekci dochází, jakmile je narušen povrch kůže či žaber. Rozsah napadení závisí na celkové kondici ryb, regenerační schopností organismu, na teplotě vody, slunečním svitu atd. Zaplísnění ryb je při tomto onemocnění prakticky druhotné - primární je poranění či

onemocnění způsobující poškození tělního pokryvu. Vážné nebezpečí ztrát představuje saprolegniosa při napadení jiker v umělých líhních.

Ichtyoftiriózа - vyvolaná kožovcem Ichthyophthirius multifiliis. Kožovec cizopasí mezi pokožkou a škárou, v žaberním epitelu atp. (Lusk et Krčál 1982).

Trypanosomóza štik je způsobena krevním bičíkovcem Trypanosoma remaki, který se vyskytuje často u štik v rybnících, ale nezpůsobuje větší zdravotní problémy. Bičíkovec Trypanoplasma guerneyorum cizopasí obdobně jako předchozí druh v krvi štik a patologicky se uplatňuje zejména v předjarním období. Parazit se rozmnožuje a je přenášen rybími pijavkami.

Dermocystidióza štik je vyvolávána prvokem Dermocystidium vejdovskyi, který se vyskytuje poměrně často u štik, ale nemá větší epizootologický význam.

Myxosporidioza ryb je vyvolávána celou řadou tkáňových cizopasníků. Druh Myxidium lieberkuhni cizopasí poměrně často na stěně močového měchýře štik. Henneguya lobosa a H. psorospermisa vytváří cesty na žaberních lístcích u štiky, jejich výskyt je častý. Druh H. oviperda cizopasí ve vaječnících u štiky, kde způsobuje odumírání jiker.

Chilodonelóza je velmi častou parazitozou, jejíž původcem je čepelenka Chilodonella cyprini. Tento nálevník nachází optimální podmínky k množení při teplotách vody 5-10°C, tj. v dubnu a květnu.

Helmintózy jsou způsobené významnou skupinou cizopasných živočichů - červů neboli helmitů. Cizopasní červi se vyskytují jako paraziti u štik poměrně často, jedná se asi o 15 druhů. V případech, kdy početnost výskytu cizopasných červů dosahuje vyšších hodnot a nebo napadají klíčové orgány (oko, játra), vznikají vážné poruchy a nepříznivé dopady na zdravotním stavu napadených jedinců, dochází ke zpomalení jejich růstu a může dojít i k jejich úhynu.

U plůdku a násad se mohou velmi nepříznivě projevit invaze povrchových cizopasníků napadajících žábra, např. druh Tetraonchus monenteron, a nebo pokožku a ploutve, např. Gyrodactylus lucii. Příležitostnými povrchovými parazity zejména v rybnících jsou jedinci pijavky rybí Piscicola geometra, která může zejména při silné invazi značně poškodit tělní povrch štik s následným zaplísněním, a mimo to jsou reservoáry a přenašeči cizopasných krevních prvoků. Lárválni stádia druhů rodu motolic z Diplostomum cizopasí v očích štiky a způsobují jejich vážné onemocnění vyvolávající místy značné ztráty v důsledku částečného nebo úplného oslepnutí napadených jedinců. Z tasemnic patří mezi nejvýznamnější a nejrozšířenější parazity štiky druhy rodu Triaenophorus, cizopasící u štik zejména ve stojatých vodách (Lusk et Krčál 1982).

cizopasníci : PROTOZOA - *Chilodonella cyprini, Cryptobia branchialis, Dermocystidium vejdovskyi, Epistylis lwoffi, Hoferelus gilsoni, Henneguya lobosa, H. oviperda, H. psorospermica, Ichthiobodo necator, Ichthiophthirius multifiliis, Myxidium lieberkühni, Myxobolus anurus, Pleistophora oolytica, Trichodina esocis, Trichodinella epizootica, Trichophrya piscium, Trypanoplasma guerneyorum, Trypanosoma remaki,* MONOGENEA - *Tetraonchus monenteron, Gyrodactilus lucii, Ancyrocephalus paradoxus, NEMATODA - Philometra obturans, Esocinema bohemicum, Camallanus lacustris, C. truncatus, Raphidascaris acus, Cystidicoloides ephemeridarum,* TREMATODA - *Rhipidocotile illense, Bucephalus polymorphus, Phyllodistomum folium, Azygia lucii, Bunodera luciopercae, Allocreadium isoporum, Nicolla skrjabini,* HIRUDINEA - *Piscicola geometra, Hemiclepsis marginata, Cystobranchus respirans,* LAMELLIBRANCHIATA - *Anodonta cygnea, Unio sp., Glochidia spp.,* COPEPODA - *Ergasilus sieboldi, Lernaea cyprinacea, L. esocina, Lamproglena pulchella,* BRANCHIURA - *Argulus foliaceus, A. japonicus, A. coregoni* (Baruš-Oliva, 1995).

3. MATERIÁL A METODIKA

Cílem práce byla analýza semenné plasmy a moči se zjištěním koncentrace spermií u štiky obecné ve vztahu k pohyblivosti spermií.

Metodika práce spočívala v odběru vytřeného spermatu, moči a testikulárního spermatu u zhruba 40 mlíčáků v období výtěrů, tzn. v období března až dubna. U vytřeného spermatu se posuzovalo vizuálně naředění močí a přítomnost nečistot (krve apod.), u testikulárního pouze přítomnost nečistot (krve apod.). Množství spermií se zjišťovalo počítáním v komůrce pro stanovení počtu červených krvinek. Poté se určily hodnoty spermatokrytu v procentech u vytřeného a testikulárního spermatu. U semenné plasmy a moči se stanovila osmotická koncentrace v $mOsmol.kg^{-1}$. Následně se stanovilo procento pohyblivých spermií, rychlost pohybu spermií včetně statistických výpočtů.

3.1 Odběr vytřeného spermatu

Všechno odebrané sperma pocházelo od mlíčáků poskytnutých líhní v Mydlovarech u Hluboké nad Vltavou. Ryby byly vždy odloveny v mělkých partiích rybníků (kde se již shromažďovaly k výtěrům) a převezeny do prostorů líhně, kde se udržovaly v krytých bazénech při teplotě vody 8-9°C. U Mlíčáků nebyla nijak hormonálně indukována spermiace. Ryby se vždy zvážily a změřily.

V roce 2004 se podařilo 24. března odebrat sperma od 15ti kusů a 1. dubna od sedmi kusů mlíčáků štiky obecné. V roce 2005 probíhaly odběry 6. dubna (5 ks), 8. dubna (5ks) a 14. dubna (5 ks). Dohromady se tedy podařilo sperma odebrat od 37 ks mlíčáků štiky obecné o hmotnosti v rozmezí 880-2600g.

Sperma se uvolňovalo buď samovolně nebo se po masáži břišní dutiny s odběrem do injekční stříkačky o objemu 5ml přiložené těsně k urogenitálnímu otvoru. Následně bylo převedeno do eppendorfních zkumavek o objemu 2ml a uchováváno v aerobních podmínkách na mokrém ledu do doby následné analýzy. Evidováno bylo na místě množství odebraného vytřeného spermatu v ml a později statisticky zpracováno.

3.2 Odběr moči

Odebraná moč pocházela od mlíčáků poskytnutých líhní v Mydlovarech u Hluboké nad Vltavou. Ryby byly vždy odloveny v mělkých partiích rybníků (kde se již shromažďovaly

k výtěrům) a převezeny do prostorů líhně, kde se udržovaly v krytých bazénech při teplotě vody 8-9°C. Mlíčáků nebyla nijak hormonálně indukována spermatogeneze.

V roce 2004 se podařilo 24. března odebrat moč od 14ti kusů a 1. dubna od šesti kusů mlíčáků štiky obecné. V roce 2005 probíhaly odběry 6. dubna (3 ks), 8. dubna (2ks) a 14. dubna (5 ks). Dohromady se tedy podařilo moč odebrat od 30 ks mlíčáků štiky obecné o hmotnosti 880-2600g.

Moč se uvolňovala buď samovolně nebo po masáži břišní dutiny směrem dorsálně od urogenitálního otvoru (v místech teoretického umístění močového měchýře) s odběrem do injekční stříkačky o objemu 5ml přiložené těsně k urogenitálnímu otvoru. Následně byla převedena do eppendorfních zkumavek o objemu 2ml a uchovávána v aerobních podmínkách na mokrém ledu do doby následné analýzy. Evidováno bylo množství moči v ml a později statisticky zpracováno.

3.3 Odběr testikulárního spermatu

Po usmrcení ryby proběhlo otevření břišní dutiny a opatrné vyjmutí obou gonád (levé i pravé). Bylo nutné gonády očistit od krve, která by mohla sperma znehodnotit. Následně se gonády rozstříhaly na malé kousky a protlačily skrz uhelon, čímž se získalo testikulární sperma. Z jedné gonády se vždy použila přední, střední i zadní část, kvůli nestejné koncentraci spermií v jednotlivých částech.

Testikulární sperma se odebíralo přímo do eppendorfních zkumavek o objemu 2ml a uchovávalo v aerobních podmínkách na mokrém ledu do doby následné analýzy. Celkový počet vzorků byl 37 kusů.

3.4 Stanovení koncentrace spermií

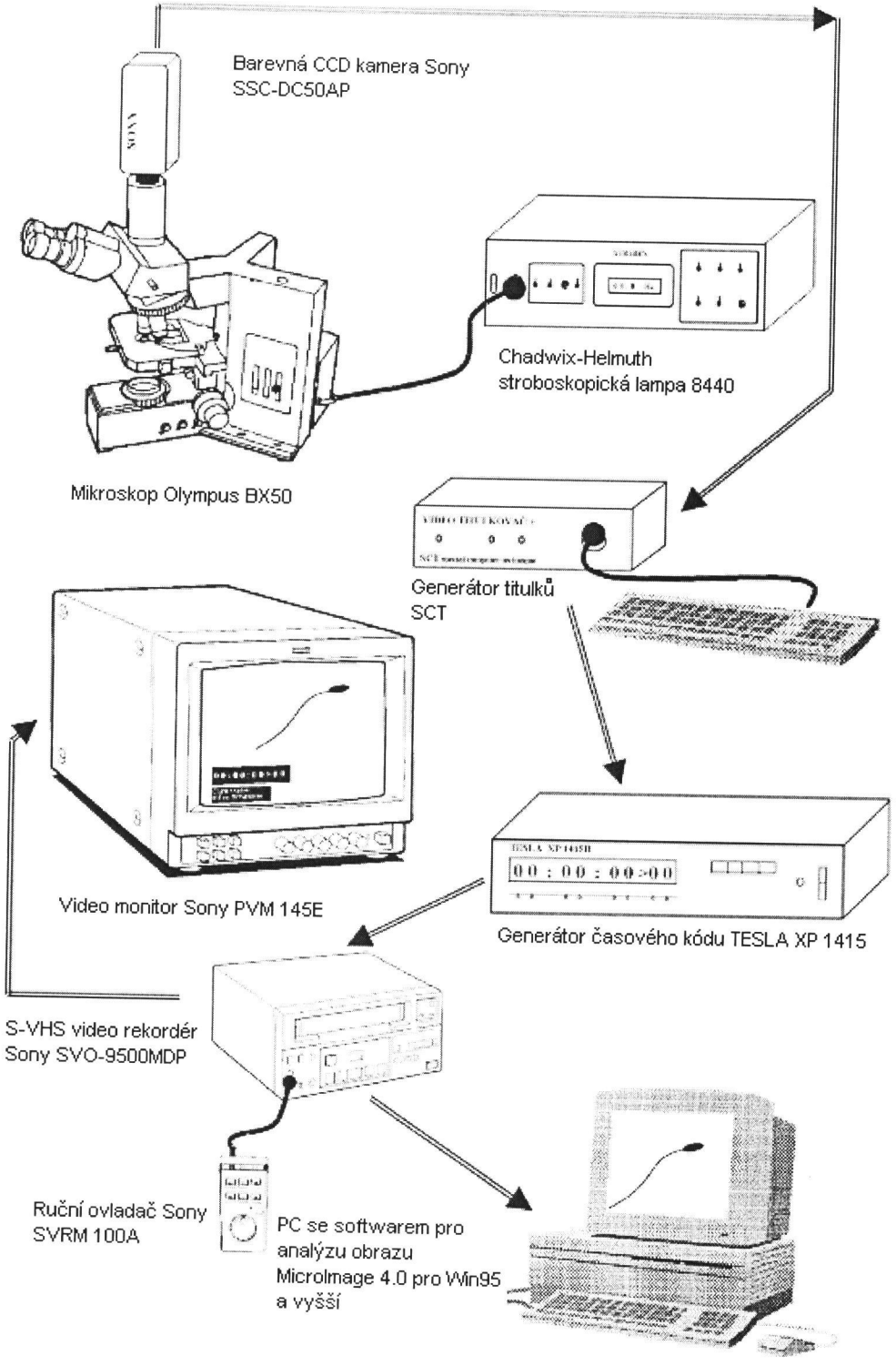
Koncentrace spermií po zředění byla počítána v Bürkerových komůrkách pod mikroskopem (400x) podle metodiky Linhart et al. (2003). Pro základní ředění bylo použito 10 µl spermatu a 990 µl fyziologického roztoku s formaldehydem. Pro doředění postačilo opět 10 µl již předředěného roztoku spermií a 990 µl fyzilogického roztoku. Koeficient ředění byl tedy 1:10000. Ze sumy spermií z 16 komůrek o rozměrech 0.2 x 0,2 x 0,1mm se vypočetlo průměrné množství spermií na 1 komůrku. Ze známého objemu jedné komůrky pak můžeme jednoduchým přepočtem získat množství spermií na 1 ml spermatu. Výsledky jsou uváděny v 10^9 spermií.ml^{-1}. Počet spermií na mlíčáka a počet spermií na kg tělní váhy mlíčáka byly vyjadřovány v 10^9 spermií na mlíčáka.

3.5 Pozorování a vyhodnocení pohyblivosti a rychlosti spermií

Vyhodnocována byla motilita a rychlost vytřených a testikulárních spermií. Měřící technika užívající temného pole mikroskopu a kamery značky Sony byla nastavena podle Linharta et al. (2002). Pohyblivost a rychlost spermií byla zkoumána pod zvětšením 200x, ihned po smíchání 0.5 µl vytřeného či testikulárního spermatu s destilovanou vodou 49.5 µl, obsahující 0.1 % BSA, či s močí toho kterého určitého mlíčáka. Konečné zředění bylo 1:100. BSA bylo přidáno kvůli zamezení přilepení hlavičky spermie k podložnímu sklíčku. Pro každý pokus byl udělán 3x80 vteřinový obrázkový záznam ještě v den odběru spermatu, užívaný později pro vyhodnocení pohyblivé činnosti spermií. Ohnisková rovina byla vždy položena blízko povrchu krycího sklíčka. Pohyby spermií byly zaznamenány na S-VHS (SONY, SVO-9500 MDP) rekordér v 25 snímcích za sekundu, s použitím CCD (snímacího zařízení obrazu) video kamery (SONY, SSC-DC50AP) připojenou na stinné pole mikroskopu (Olympus BX 50) a vizualizovanou na videomonitor osvětlený stroboskopickou lampou od Strobexu (Chadvick-Helmut, 9630, USA), viz obr.3. Nastavitelná frekvence stroboskopického osvětlení byla naprogramována na automatický zápis obrazových snímků (50 Hz) pro měření rychlosti spermií.

Následující zaznamenaná poloha hlavičky spermií ze snímku byla změřena za jednotku času s použitím video-rekordéru (SONY SVHS, SVO-9500 MDP) v čase 15, 30, 45 a 60 s po aktivaci spermií (nahráváno 25 snímků za sekundu) analyzována pomocí mikro-obrázkové analýzy (Verze 4.0.1. pro Windows se speciálním makro od značky Olympus Czech Republic). Rychlost a motilita byly měřeny podle změny polohy hlavičky spermií v pěti následujících snímcích s třemi různými barvami (první snímek-modrý, druhý až čtvrtý-zelený a pátý-červený). Pohyb spermií byl viditelný ve třech barvách, nepohyblivé spermie byly bílé. Procento pohybujících se spermií bylo lehce vypočitatelné z poměru bílých a červených hlaviček. Rychlost pohybu spermií byla počítána v $\mu m.s^{-1}$ podle délky stopy hlaviček spermií z modré do zelené a červené. Dále byla zapisována celková doba pohybu spermií. Rychlost, motilita i celková doba pohybu spermií byly statisticky vyhodnocovány a to pro všechny časové hodnoty (15,30,45 a 60s).

Obr.3. Schéma zapojení jednotlivých přístrojů (Linhart et al. 2002)



3.6 Stanovení hodnot spermatokrytu

Hodnoty spermatokrytu byly zjišťovány pro vytřené a testikulární sperma. Malé množství spermatu bylo vždy nasáno do tenké duté skleněné trubičky a v ní zafixováno pomocí kousku plastelínové hmoty. Poté byly trubičky upevněny do elektrické odstředivky (typ MPW-52 od firmy Opt-ing servis), kde došlo při 7000ot.min^{-1} za dobu 10 minut k usazení spermií v dolní části trubiček (horní díl zabírala semenná plasma). Poměr délky trubičky, kde bylo usazené sperma, k délce celkové znamenal vlastně přímo procentické určení spermatokrytu. Hodnoty byly později statisticky zpracovány.

3.7 Měření osmotické koncentrace semenné plasmy a moči

Osmotická koncentrace se stanovovala pro moč, semennou plasmu vytřeného a testikulárního sperma. Bylo třeba získat semennou plasmu, a to odstředěním spermatu v elektrické odstředivce (typ MPW-52 od firmy Opt-ing servis). Moč se odstřeďovala také kvůli obsahu nečistot. Eppendorfní zkumavky s močí a spermatem se upevnily v odstředivce a při 7000 ot.min^{-1} za dobu 10 minut došlo k oddělení semenné plasmy u spermatu a k oddělení nečistot u moči.

Osmotická koncentrace se zjišťovala pomocí osmometru 5520 (firma Wescor). Přístroj bylo nutné před každým měřením důsledně zkalibrovat. Vzorek spermatu či moči (10 µl) se nasál pomocí mikropipety na speciální papírek a vložil do přístroje a ten sám určil hodnoty osmotické koncentrace, které se později statisticky zpracovaly.

3.8 Analýza dat

Data byla statisticky vyhodnocována s použitím programu Statgraphics ver. 6.0 pod Windows. U všech hodnot byly stanoveny základní popisné statistiky (počet měření, průměr, směrodatná odchylka, intervaly spolehlivosti ± 95 %, medián, rozptyl, směrodatná chyba, minima a maxima).

U dvou vzorků, které bylo třeba mezi sebou vzájemně porovnat, byl použit Studentův t-test pro dva nezávislé vzorky. U více jak dvou vzorků, které bylo třeba mezi sebou porovnat, bylo třeba nejdříve otestovat rozdíl rozptylů a to za pomocí Leveneova testu. Při hladině významnosti $p > 0,05$ byla použita ANOVA a to tzv. LSD testy. Pokud ovšem hladina významnosti $p < 0,05$, bylo nutné pokračovat neparametrickou statistikou a to tzv. Kruskal-

Wallisovým mediánovým testem. LSD i Kruskal-Wallisův test nám zjistil případný prokazatelný rozdíl mezi vzorky a dále pak bylo možno rozhodnout za pomocí průměrů či mediánů o pořadí vzorků.

U vzorků, kde bylo třeba zjistit, zda jsou na sobě nějakým způsobem závislé, se pracovalo s grafickým zpracováním s použitím programu Excel 2003 a Statgraphics ver. 6.0 pod Windows. Vždy se hledala křivka, která co nejdokonaleji popisuje danou závislost.

4. VÝSLEDKY

4.1 Exteriérové ukazatele

Vzorky se podařilo odebrat celkem od 37 ryb. Průměrná celková hmotnost testovaných ryb byla 1547,32 g. Průměrná délka těla (CL) byla 540,11 mm, průměrná celková délka 613,19 mm a průměrný kondiční faktor (KF) 28,16 ± 5,97 $g.cm^{-1}$. Všechny hodnoty od mlíčáků dokumentují tab. 24 a 25 v přílohách, data statisticky zpracované tab. 30 v přílohách.

Délka těla (CL) závisela na hmotnosti ryby vztahem (graf 16, přílohy):

$$y = -3.10^{-5}x^2 + 0,1965x + 309,43 \; ; x \in \langle 880; 2600 \rangle \; ; R^2 = 0,924$$

Celková délka (TL) závisela na hmotnosti ryby vztahem (graf 16, přílohy):

$$y = -4.10^{-5}x^2 + 0,237x + 346,58 \; ; x \in \langle 880; 2600 \rangle \; ; R^2 = 0,9166$$

Celková délka (TL) závisela na délce těla (CL) vztahem (graf 17, přílohy):

$$y = 1,8242x^{0,9247} \; ; x \in \langle 440; 645 \rangle \; ; R^2 = 0,9615$$

4.2 Stav gonád

Průměrná hmotnost gonád byla 34,64 ± 11,94 g a průměrný gonadosomatický index (GI) vyšel 2,26 ± 0,64. Všechny hodnoty od všech mlíčáků dokumentují tab. 24 a 25 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

Hmotnost gonád závisela na celkové hmotnosti ryby vztahem (graf 18, přílohy):

$$y = -3.10^{-6}x^2 + 0,0277x - 0,5133 \; ; x \in \langle 880; 2600 \rangle \; ; R^2 = 0,4799$$

4.3 Objem odebraného spermatu a moči

Průměrný objem odebraného spermatu byl 1,16 ± 0,76 ml a průměrný objem odebrané moči 0,47 ± 0,45 ml. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 24 a 25 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

4.4 Koncentrace spermií

Koncentrace SPZ_V vyšla v průměru 22,61 ± 3,46 $.10^9.ml^{-1}$ a koncentrace SPZ_T v průměru 33,69 ± 5,25 $.10^9.ml^{-1}$. Studentův t-test pro dva nezávislé vzorky zjistil prokazatelný rozdíl mezi oběma koncentracemi a podle hodnot průměrů i mediánů jsem zjistil

vyšší koncentraci u SPZ_T. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 24 a 25 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

4.5 Spermatokryt

Průměrná hodnota spermatokrytu SPZ_V vyšla 56,04 ± 14,83 % a průměrná hodnota spermatokrytu SPZ_T 82,72 ± 12,77 %. Studentův t-test pro dva nezávislé vzorky zjistil prokazatelný rozdíl mezi oběma spermatokryty a podle hodnot průměrů i mediánů jsem zjistil vyšší hodnotu spermatokrytu u SPZ_T (viz graf 19, přílohy). Všechny hodnoty od všech mlíčáků dokumentují tab. 24 a 25 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

Spermatokryt SPZ_V závisel na spermatokrytu SPZ_T vztahem (graf 20, přílohy):

$$y = 0{,}6892x - 0{,}9644 \; ; \; x \in \langle 53; 99 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}3523$$

Spermatokryt SPZ_V závisel na koncentraci SPZ_V vztahem (graf 21, přílohy):

$$y = 2{,}302x + 3{,}9981 \; ; \; x \in \langle 15{,}63; 29{,}38 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}2886$$

Spermatokryt SPZ_T závisel na koncentraci SPZ_T vztahem (graf 22, přílohy):

$$y = 0{,}528x + 64{,}928 \; ; \; x \in \langle 21{,}88; 42{,}66 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}0472$$

4.6 Osmolalita

Průměrná osmolalita moči byla 67,9 ± 35,47 $mosmol.kg^{-1}$, průměrná osmolalita semenné plasmy SPZ_V 272,59 ± 21,36 $mosmol.kg^{-1}$ a průměrná osmolalita u semenné plasmy SPZ_T 358,11 ± 76,53 $mosmol.kg^{-1}$. Všechny tři osmolality byly porovnány Kruskal-Wallisovým testem ($p < 0{,}05$) a ten zjistil prokazatelný rozdíl mezi všemi třemi osmolalitami. Podle hodnot průměrů i mediánů vyšla tedy jako nejmenší osmolalita u moči, vyšší u SPZ_V a nejvyšší u SPZ_T. Mezi jednotlivými osmolalitami navzájem nebyla nalezena žádná závislost (graf 23, přílohy). Všechny hodnoty od všech mlíčáků ukazují tab. 26 a 27 v přílohách. Data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

Osmolalita s. p. SPZ_T závisela na koncentraci SPZ_T vztahem (graf 24, přílohy):

$$y = 0{,}0544x^3 - 4{,}6845x^2 + 135{,}97x - 1006{,}1 \; ; \; x \in \langle 21{,}88; 42{,}66 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}3713$$

Osmolalita s. p. SPZ_T závisela na spermatokrytu SPZ_T vztahem (graf 25, přílohy):

$$y = 214{,}97e^{0{,}0059x} \; ; \; x \in \langle 53; 99 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}1557$$

4.7 Ukazatele plodnosti

V ukazatelích plodnosti bylo dosaženo následujících výsledků : průměrná absolutní plodnost (APP) - 26,41 ± 16,93 $.10^9$ spermií na mlíčáka, průměrná relativní pracovní plodnost (RPP) - 17,68 ± 12,00 $.10^9$ spermií na kg mlíčáka a průměrná relativní objemová plodnost (ROP) - 0,81 ± 0,58 ml na kg mlíčáka. Všechny hodnoty od mlíčáků obsahují tab. 26 a 27 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 30 v přílohách.

APP závisela na objemu odebraného spermatu vztahem (graf 26, přílohy):

$$y = 21{,}528x + 1{,}3356 \; ; \; x \in \langle 0{,}1; \; 3{,}5 \rangle \; ; \; R^2 = 0{,}9412$$

4.8 Rychlost spermií

Rychlost pohybu spermií v závislosti na čase u SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) znázorňuje graf 27 (přílohy), u SPZ_V (aktiv. močí) graf 28 (přílohy), u SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA) graf 29 (přílohy) a u SPZ_T (aktiv. močí) graf 30 (přílohy).

Pro čas **15s** byly vzorky srovnány pomocí ANOVY a to s využitím LSD testů ($p > 0{,}05$). Tyto testy zjistily, že rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla nižší než rychlost SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA) a nižší než rychlost SPZ_T (aktiv. močí). Rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) a rychlost SPZ_V (aktiv. močí) nebylo možno od sebe odlišit. Rychlost SPZ_V (aktiv. močí) byla nižší než rychlost SPZ_T (aktiv. močí), ale vyšší než rychlost SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA). Rychlost SPZ_T (aktiv. močí) nebylo možno odlišit od rychlosti SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA). Průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla 163,32 ± 39,59 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. močí) potom 165,60 ± 35,62 $\mu m.s^{-1}$. Průměrná rychlost SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) byla stanovena na 172,49 ± 38,67 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_T (aktiv. močí) potom 173,27 ± 38,13 $\mu m.s^{-1}$. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **30s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0{,}05$). Ten ukázal, že rychlosti vzorků aktivovaných močí jsou vyšší než rychlosti vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA, ale nelze vzorky aktivované močí navzájem odlišit. Rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla vyšší než rychlost SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA). Průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla 58,97 ± 28,71 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. močí) potom 97,01 ± 30,71 $\mu m.s^{-1}$. Průměrná rychlost SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) byla stanovena na 47,30 ± 28,45 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_T

(aktiv. močí) potom 104,94 ± 44,83 $\mu m.s^{-1}$. Všechny hodnoty od všech mlíčáků dokumentují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **45s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten ukázal, že rychlosti vzorků aktivovaných močí jsou vyšší než rychlosti vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Rychlosti vzorků aktiv. močí nelze od sebe odlišit, stejně tak vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla 17,73 ± 15,43 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. močí) potom 41,75 ± 22,38 $\mu m.s^{-1}$. Průměrná rychlost SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) byla stanovena na 15,69 ± 10,50 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_T (aktiv. močí) potom 62,40 ± 46,09 $\mu m.s^{-1}$. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **60s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten ukázal, že rychlosti vzorků aktivovaných močí jsou vyšší než rychlosti vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Rychlosti vzorků aktiv. močí nelze od sebe odlišit, stejně tak vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) byla 3,93 ± 6,14 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_V (aktiv. močí) potom 12,76 ± 10,48 $\mu m.s^{-1}$. Průměrná rychlost SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) byla stanovena na 0,32 ± 1,22 $\mu m.s^{-1}$, průměrná rychlost SPZ_T (aktiv. močí) potom 26,35 ± 30,01 $\mu m.s^{-1}$. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Rychlost SPZ_V (akt. destil. vodou s BSA) závisela na čase vztahem (graf 31, přílohy):

$$y = 0,1054x^2 - 11,199x + 312,6 \; ; \; x \in \langle 15; 51,42 \rangle \; ; \; R^2 = 0,9934$$

Rychlost SPZ_V (akt. močí) závisela na čase vztahem (graf 31, přílohy):

$$y = 0,0435x^2 - 6,7765x + 260,74 \; ; \; x \in \langle 15; 69,35 \rangle \; ; \; R^2 = 0,9991$$

Rychlost SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) závisela na čase vztahem (graf 31, přílohy):

$$y = 0,1319x^2 - 13,442x + 338,37 \; ; \; x \in \langle 15; 45,38 \rangle \; ; \; R^2 = 0,9718$$

Rychlost SPZ_T (akt. močí) závisela na čase vztahem (graf 31, přílohy):

$$y = 0,0438x^2 - 6,8028x + 263,79 \; ; \; x \in \langle 15; 74,81 \rangle \; ; \; R^2 = 0,998$$

4.9 Procento pohyblivých spermií (PPS)

Procento pohyblivých spermií v závislosti na čase u SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) znázorňuje graf 32 (přílohy), u SPZ_V (aktiv. močí) graf 33 (přílohy), u SPZ_T (aktiv. destil. vodou s BSA) graf 34 (přílohy) a u SPZ_T (aktiv. močí) graf 35 (přílohy).

Pro čas **15s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten ukázal, že procento přežití u SPZ_T (aktiv. močí) není možno odlišit od ostatních vzorků. Procento přežití u SPZ_V (aktiv. močí) bylo vyšší než u SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) a SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA). Vzorky SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) a SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) nebylo možno od sebe odlišit. Průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) bylo 59,26 ± 36,75 %, průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. močí) potom 90,65 ± 14,04 %. Průměrné procento přežití SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) bylo stanoveno na 64,99 ± 23,65 %, průměrné procento přežití SPZ_T (aktiv. močí) potom 87,57 ± 11,46 %. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **30s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten prokázal, že není možno od sebe odlišit vzorky aktivované močí, stejně tak není možno od sebe odlišit vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Procento přežití u vzorků aktivovaných močí bylo prokazatelně vyšší než u vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) bylo 33,42 ± 27,27 %, průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. močí) potom 67,39 ± 32,99 %. Průměrné procento přežití SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) bylo stanoveno na 33,41 ± 23,55 %, průměrné procento přežití SPZ_T (aktiv. močí) potom 74,32 ± 14,80 %. Všechny hodnoty od všech mlíčáků dokumentují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **45s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten prokázal, že není možno od sebe odlišit vzorky aktivované močí, stejně tak není možno od sebe odlišit vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Procento přežití u vzorků aktivovaných močí bylo prokazatelně vyšší než u vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. destil. vodou s BSA) bylo 8,40 ± 9,72 %, průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. močí) potom 39,52 ± 28,24 %. Průměrné procento přežití SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) bylo stanoveno na 5,95 ± 6,50 %, průměrné procento přežití SPZ_T (aktiv. močí) potom 38,69 ± 20,94 %. Všechny hodnoty od všech mlíčáků obsahují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

Pro čas **60s** musely být vzorky srovnávány Kruskal-Wallisovým mediánovým testem ($p < 0,05$). Ten prokázal, že není možno od sebe odlišit vzorky aktivované močí, stejně tak není možno od sebe odlišit vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Procento přežití u vzorků aktivovaných močí bylo prokazatelně vyšší než u vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Průměrné procento přežití SPZ_V (akt. destil. vodou s BSA) bylo 1,38 ± 3,40 %, průměrné procento přežití SPZ_V (aktiv. močí) potom 14,22 ± 11,74 %. Průměrné procento přežití SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) bylo stanoveno na 0,38 ± 1,72 %, průměrné procento přežití SPZ_T (aktiv. močí) potom 11,01 ± 10,87 %. Všechny hodnoty od všech mlíčáků dokumentují tab. 28 a 29 v přílohách, data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

PPS SPZ_V (akt. destil. vodou s BSA) závisela na čase vztahem (graf 36, přílohy):

$$y = 0,0003x^3 - 0,0022x^2 - 2,7413x + 102,65 ; x \in \langle 15; 51,05 \rangle ; R^2 = 1$$

PPS SPZ_V (akt. močí) závisela na čase vztahem (graf 36, přílohy):

$$y = 0,001x^3 - 0,1311x^2 + 2,9749x + 79,336 ; x \in \langle 15; 72,62 \rangle ; R^2 = 0,9963$$

PPS SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) závisela na čase vztahem (graf 36, přílohy):

$$y = 0,0004x^3 - 0,0053x^2 - 3,0068x + 114,27 ; x \in \langle 15; 50,22 \rangle ; R^2 = 1$$

PPS SPZ_T (akt. močí) závisela na čase vztahem (graf 36, přílohy):

$$y = 0,0011x^3 - 0,1435x^2 + 3,4871x + 68,597 ; x \in \langle 15; 66,38 \rangle ; R^2 = 0,9998$$

4.10 Celková doba pohybu spermií

Celková doba pohybu byla hodnocena pro SPZ_V či SPZ_T smíchané s destilovanou vodou s BSA či s močí. Odtud vznikly čtyři vzorky, které bylo nutné statisticky porovnat.

Vzorky byly srovnány pomocí ANOVY a to s využitím LSD testů ($p > 0,05$). Ten prokázal, že není možno od sebe odlišit vzorky aktivované močí, stejně tak není možno od sebe odlišit vzorky aktivované destilovanou vodou s BSA. Celková doba pohybu u vzorků aktivovaných močí byla prokazatelně vyšší než u vzorků aktivovaných destilovanou vodou s BSA. Průměrná celková doba pohybu SPZ_V (akt. destil. vodou s BSA) byla 50,69 ± 11,44 s, průměrná celková doba pohybu SPZ_V (aktiv. močí) potom 69,17 ± 10,84 s. Průměrná celková doba pohybu SPZ_T (akt. destil. vodou s BSA) byla stanovena na 49,61 ± 5,49 s, průměrná celková doba pohybu SPZ_T (aktiv. močí) potom 73,00 ± 13,70 s. Situaci znázorňuje graf 37 v přílohách. Všechny hodnoty od všech mlíčáků ukazují tab. 28 a 29 v přílohách. Data statisticky zpracované potom tab. 31 v přílohách.

5. DISKUZE

5.1 Exteriérové ukazatele

Vztah, který jsme zjistili pro závislost celkové délky těla mlíčáka štiky obecné na délce těla ($y = 1{,}8242x^{0{,}9247}$) pro $x \in \langle 440; 645 \rangle$ koresponduje se vztahem $y = 1{,}142$. x uváděným Vostradovským (1970). Stejně tak vztah zjištěný pro závislost celkové délky těla na dosažené hmotnosti jedince ($y = -4.10^{-5}x^2 + 0{,}237x + 346{,}58$) pro $x \in \langle 880; 2600 \rangle$ souhlasí pro uvedené rozmezí hodnot CL se skutečnostmi zjištěnými Poupětem (1980) z ÚN Husinec a Luskem et Krčálem (1982) z ÚN Kníničky.

Zároveň uvádím, že nebyla nalezena žádná souvislost mezi celkovou hmotností (či délkou těla – růstem ryby) a množstvím vytřeného spermatu, koncentrací spermií, osmolalitou semenné plasmy i moči ani pohyblivostí spermií. Závislost hmotnosti gonád na celkové hmotnosti ryby je uvedena v kap. 5.2.

5.2 Stav gonád

Vzhledem k tomu, že jsme vzorky odebírali v období od 24. března do 14. dubna (tedy výtěrové období – v závislosti na teplotě každého roku) můžeme konstatovat, že námi zjištěný průměrný GI (gonadosomatický index) = 2,26 ± 0,64 se vcelku shoduje s hodnotami uváděnými pro mlíčáky v předvýtěrovém období Krupauerem et Pekařem (1965) z ÚN Lipno a to 2,37, Hochmanem (1964) pro rybníky Jižní Moravy – 1,97 a Kouřilem et Hamáčkovou (1977) z oblasti Vodňanských rybníků – 1,99. Poněkud vyšší se zdá GI zjištěný Efimovou (1949) z Obu a Irtyše a to 2,53. Zdá se, že nejvíce záleží na momentální výtěrové připravenosti každé ryby a s tím samozřejmě související dostupnosti potravy.

Hmotnost varlat opět koresponduje pro danou dobu (březen, duben) s hodnotami zjištěnými Billardem et al. (1983). Zdá se, že je možné teoreticky popsat závislost hmotnosti varlat na celkové hmotnosti ryby a to parabolickým vztahem $y = -3.10^{-6}x^2 + 0{,}0277x - 0{,}5133$ pro $x \in \langle 880; 2600 \rangle$ s pravděpodobností 47,99 % (graf 18, přílohy). Nebyl nalezen vztah mezi hmotností gonád a objemem vytřeného spermatu, koncentrací spermií, osmolalitou ani pohyblivostí spermatu.

5.3 Objem vytřeného spermatu a moči

Z našich výsledků (ø 1,16 ± 0,76 ml/ks) je patrné, že objem získaného spermatu u štiky je opravdu velmi malý a lze potvrdit konstatování Krupauera et Pekaře (1965), že maximální množství odebraného spermatu (extrém) se pohybuje na úrovni 3-4 ml. Tito autoři uvádějí průměrné množství odebraného spermatu v rozmezí 1,2-1,6 ml. Naše výsledky se dobře shodují pro daný hmotnostní interval i s výsledky Montalemberta et al. (1980). Výsledky Linharta (1984), který zjistil nejvyšší průměrný objem spermatu štiky 0,53ml/ks u osmi mlíčáků o průměrné hmotnosti 721,0g a nejnižší objem spermatu 0,26ml/ks u šesti mlíčáků o hmotnosti 1293g si lze vysvětlit tím, že pokusy probíhaly až na konci výtěrové sezóny. Z našich údajů nelze potvrdit Linhartův (1984) výsledek, že by existovala závislost mezi celkovou hmotností jedince a objemem vytřeného spermatu. V našich hmotnostních kategoriích (880 - 2600g) nebyla nalezena ani žádná jiná závislost. Závislost APP (absolutní pracovní plodnosti) na objemu vytřeného spermatu je uvedena v kap. 5.7.

Množství odebrané moči záviselo spíše na momentálním stavu jedince a naší připravenosti a schopnosti tuto moč zachytit (dobré zfixování ryby). Naše výsledky nelze porovnat s jinými autory.

5.4 Koncentrace spermií

Náš výsledek (22,61 ± 3,46 $.10^9.ml^{-1}$) pro koncentraci SPZ_V nelze porovnat s výsledky Krupauera et Pekaře (1965), kteří odebírali vzorky až na konci výtěrové sezóny a tudíž jsou jimi zmiňované hodnoty koncentrací nižší. Tito autoři, stejně jako Linhart (1984), se domnívají, že s celkovou hmotností jedince se zvyšuje i koncentrace spermií, což jsem ovšem nepotvrdil. Mé měření spíše dokumentuje značnou variabilitu v hodnotách koncentrací spermií v závislosti na hmotnosti jedince, stejně jako měření Kouřila et Hamáčkové (1975). Naše výsledky se vcelku shodují s výsledky Lindtrotha (ex Ginsburg 1968), který uvádí koncentraci spermií v rozmezí 20,3 - 23,0 $.10^9.ml^{-1}$ a s výsledky Montalemberta et al. (1980), který uvádí průměrnou koncentraci spermií 21,55 $.10^9.ml^{-1}$. Výsledky jsou zřejmě závislé hlavně na momentální připravenosti konkrétní ryby k výtěru a samozřejmě na množství dostupné potravy v době tvorby a dozrávání pohlavních buněk, prodělaných nemocech apod. Závislost spermatokrytů SPZ_V i SPZ_T na koncentracích SPZ_V a SPZ_T je uvedena v kap. 5.5. Závislost osmolality SPZ_T na koncentraci SPZ_T je uvedena v kap. 5.6.

Výsledky pro koncentraci SPZ_T nelze porovnat s jinými autory, lze pouze konstatovat, že je vyšší než koncentrace SPZ_V. Je to zřejmě způsobeno tím, že v gonádách samců se v období odběrů vyskytovalo kromě zralých spermií i množství ještě nedozrálých pohlavních buněk, které při stanovení koncentrace spermií nebylo možné odlišit od již zralých spermií.

5.5 Spermatokryt

Montalembert et al. (1980) udává průměrnou hodnotu spermatokrytu SPZ_V pro mlíčáky štiky (v hmotnostním intervalu 150-1225g) 42,4 %. Sledoval též změny v hodnotách spermatokrytu u deseti mlíčáků v období od 10.2 do 30.3 1980 a zjistil rozmezí od 34-50%. Naše průměrné výsledky (56,04 ± 14,83 %) se zdají být vyšší, ale může se opět jednat o momentální připravenost konkrétní ryby k výtěru.

Hodnotu spermatokrytu SPZ_T není možno porovnat s jinými autory, lze pouze konstatovat, že je vyšší než hodnota spermatokrytu SPZ_V. Je to zřejmě způsobeno tím, že v gonádách samců se v období odběrů vyskytovalo kromě zralých spermií i množství ještě nedozrálých pohlavních buněk, které při stanovení hodnoty spermatokrytu SPZ_T nebylo možné odlišit od již zralých spermií. Závislost osmolality SPZ_T na spermatokrytu SPZ_T je uvedena v kap. 5.6.

Zdá se, že je hodnota spermatokrytu SPZ_V závislá na hodnotě spermatokrytu SPZ_T a to vztahem $y = 0{,}6892x - 0{,}9644$ pro $x \in \langle 53; 99 \rangle$ s pravděpodobností 35,23 % (graf 20, přílohy). Zároveň lze konstatovat, že jsou hodnoty spermatokrytů (SPZ_V i SPZ_T) závislé na koncentracích spermií (SPZ_V i SPZ_T), ovšem pro hodnoty SPZ_T pouze s nízkou vypovídací schopností (viz grafy 21 a 22, přílohy). Je to zřejmě způsobeno nepřestnostmi v určení koncentrací SPZ_T z důvodu toho, že v gonádách samců se v období odběrů vyskytovalo kromě zralých spermií i množství ještě nedozrálých pohlavních buněk, které při stanovení koncentrace spermií nebylo možné odlišit od již zralých spermií.

5.6 Osmolalita

Zjištěnou průměrnou hodnotu osmolality moči (67,9 ± 35,47 $mosmol.kg^{-1}$) není možné porovnat s jinými autory, ale jeví se jako nižší či podobná jako u tilapie (*Oreochromis mossambicus*) – 78 $mosmol.kg^{-1}$ (Linhart et al. 1999) a lína obecného (*Tinca tinca*) - 85±58 $mosmol.kg^{-1}$ (Linhart et al. 2003). Hodnota osmolality moči u sumce (*Silurus glanis*) je nižší, a to asi 50 $mosmol.kg^{-1}$ (Linhart et al. 1987). Hodnota osmolality moči u štiky se jeví

jako 4x nižší než osmolalita semenné plasmy SPZ_V a jako 5,5x nižší než osmolalita semenné plasmy SPZ_T u štiky, což je důvodem pro aktivaci spermií. Motilita spermií je kontrolována osmotickým tlakem a kombinací iontů Ca^{2+} a Na^{+} (Linhart et al. 1999)..

Zjištěnou průměrnou hodnotu osmolality semenné plasmy SPZ_V (272,59 ± 21,36 $mosmol.kg^{-1}$) není možno porovnat s údaji od jiných autorů, lze pouze konstatovat, že se jeví jako vyšší než u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) (Munkittrick et Moccia 1987) a lehce vyšší či podobná jako u lína obecného (*Tinca tinca*) (Linhart et al. 2003), u něhož nabývá hodnot 230 ± 82 $mosmol.kg^{-1}$.

Hodnotu osmolality pro semennou plasmu SPZ_T není možno porovnat s jinými autory, ale jeví se jako vyšší v porovnání s osmolalitou semenné plasmy SPZ_V, což je důkazem naředění vytřeného spermatu močí. Závislost osmolality semenné plasmy SPZ_T na koncentraci SPZ_T dokumentuje graf 24 (přílohy), stejně jako závislost na hodnotách spermatokrytu SPZ_T (viz graf 25, přílohy).

To, že nebyl nalezen vztah mezi osmolalitou moči a osmolalitou semenné plasmy SPZ_V může být způsobeno tím, že byly jednotlivé vzorky nestejně naředěny močí.

5.7 Ukazatele plodnosti

Ukazatele plodnosti APP (absolutní pracovní plodnost) a RPP (relativní pracovní plodnost) se jeví vyšší než uvádí Linhart (1984), s jinými autory není možné srovnání. Ukazatele APP i RPP jsou samozřejmě závislé jak na koncentraci SPZ_V, tak na objemu odebraného SPZ_V. Ukazatel ROP (relativní objemová plodnost) je závislý na objemu odebraného SPZ_V. Závislost APP na objemu SPZ_V lze dokumentovat grafem 26 (přílohy) a vztahem $y = 21{,}528x + 1{,}3356$ pro $x \in \langle 0{,}1; 3{,}5 \rangle$ s pravděpodobností 94,12 %.

5.8 Rychlost a procento pohyblivých spermií

Sperma SPZ_V i SPZ_T byly smíchány s destilovanou vodou (+ 0,1% BSA proti lepení spermií) či s močí. Při prvním měření (v 15s od smíchání) můžeme konstatovat, že se rychlost u všech vzorků pohybovala v rozmezí 160-180 $\mu m.s^{-1}$. U životnosti spermií již byly patrné rozdíly. Procento pohyblivých spermií u vzorků aktivovaných destilovanou vodou se pohybovalo na úrovni 60-70 %, u vzorků aktivovaných močí mezi 90-100 %. Nižší životnost spermií aktivovaných destilovanou vodou si lze vysvětlit nízkou iontovou silou a osmolalitou destilované vody oproti moči. Nižší životnost spermií SPZ_V je zřejmě způsobena naředěním

močí již při odběru spermatu, jeho zaktivováním a tím snížením dostupných energetických zdrojů pro pohyb a životnost spermií (Linhart 1991 ; Linhart et al. 1999). Nižší životnost spermií SPZ_T může být způsobena poškozením spermií již při odběru, a to při získávání spemií z gonád přes uhelon (mechanicky), či kontaminací krví (inhibitor pohybu spermií).

Při dalších měřeních (v 30, 45 a 60s) již vykazovaly vzorky aktivované močí vždy vyšší rychlosti a přežití, než vzorky aktivované destilovanou vodou, přičemž nebylo možno od sebe odlišit v těchto ukazatelích SPZ_V a SPZ_T (viz grafy 31 a 36 v přílohách).

Rychlost ani procento pohyblivých spermií nebylo závislé na hmotnosti či délce ryby. To, že nebyl nalezen vztah mezi rychlostí čí přežitím spermií a osmolalitou moči či semenné plasmy SPZ_V si lze vysvětlit nestejným naředěním SPZ_V močí. Nebyl nalezen ani vztah mezi rychlostí či přežitím spermií a osmolalitou semenné plasmy SPZ_T zřejmě v důsledku nepřesností (kontaminace SPZ_T krví) a tím, že byla na každý vzorek použita jiná moč (od konkrétního zkoušeného mlíčáka).

5.9 Celková doba pohybu spermií

Je velmi těžké porovnávat tento ukazatel s ostatními autory vzhledem k rozdílným prostředím použitým pro pohyb spermií. Linhart (1984a) uvádí celkovou dobu pohybu spermií 66-80s a Lindroth (1947) uvádí 80-90s, ovšem pokusy prováděli ve sladké vodě (neznámé iontové složení).

Námi zjištěná celková doba pohybu spermií je jasně vyšší po aktivaci močí, a to jak pro SPZ_V, tak pro SPZ_T (graf 37, přílohy). Nižší celkovou dobu pohybu spermií aktivovaných destilovanou vodou si lze vysvětlit nízkou iontovou silou a osmolalitou destilované vody oproti moči. Snížení celkové doby pohybu spermií SPZ_V může být způsobeno naředěním močí již při odběru spermatu, jeho zaktivováním a tím snížením dostupných energetických zdrojů pro pohyb a životnost spermií. Snížení celkové doby pohybu spermií SPZ_T může být způsobeno poškozením spermií již při odběru, a to při získávání spemií z gonád přes uhelon (mechanicky), či kontaminací krví (působí jako inhibitor pohybu spermií). Celkově působí moč jako prostředí o 25-30 % delší pohyb spermií než destilovaná voda.

Pro celkovou dobu pohybu spermií nelze najít závislost s hodnotami osmolalit a to podobně jako pro rychlost pohybu a procento přežití (viz kap. 5.8).

6. ZÁVĚR

Hmotnost gonád u mlíčáků štiky se zvyšuje (i když se značnou variabilitou) s hmotností jedinců. Objem vytřeného spermatu nezávisí na hmotnosti ryby, ale na momentální připravenosti každého konkrétního kusu k výtěru. Stejně tak koncentrace spermií a s ní související hodnoty spermatokrytu nejsou závislé na hmotnosti ryby.

Štika obecná patří mezi ty druhy ryb, u nichž dochází při uvolňování spermatu ke kontaminaci tohoto spermatu močí. Množství moči uvolněné do spermatu je velmi variabilní a z toho důvodu kolísá i kvalita spermií použitelných při umělém výtěru. Nízká osmolalita moči vůči osmolalitě semenné plasmy testikulárního spermatu způsobí zaktivování spermií. Tím dochází v krátké časové době (45 – 80s) k vyčerpání energetických rezerv velkého množství spermií a jejich pohyb ustává. Tyto spermie jsou dále nepohyblivé nebo pouze omezeně pohyblivé a tedy nevhodné k umělému výtěru.

Předmětem dalšího výzkumu v této oblasti tedy zůstává vytvoření speciálního immobilisačního roztoku pro mlíčáky štiky obecné, který by svým iontovým složením a osmolalitou znemožnil ihned po odběru aktivaci spermií, stejně jako je tomu např. u sumce velkého (*Silurus glanis*) či lína obecného (*Tinca tinca*). Tím by se značně zefektivnila a zkoordinovala práce na štičích líhních.

tab. 24. Základní tabulka mlíčáků podle pořadových čísel 1/2

		EXTERIÉROVÉ HODNOTY				GONÁDY		OBJEM SPERMATU A MOČI		KONCENTRACE SPERMIÍ		SPERMATOKRYT		
poř.č.	datum odběru	m[g]	TL[mm]	CL[mm]	KF	m_o (g)	GI (%)	Objem SPZ_V[ml]	Objem moči (ml)	SPZ_V[10^9/ml]	SPZ_T[10^9/ml]	SPZ_V (%)	SPZ_T (%)	poř.č.
1	24.3.2004	880	525	455	19,3	32,65	3,71	2,2	0,2	22,03	32,34	58	77	1
2	1.4.2004	900	505	440	20,5	25,44	2,83	0,2	0,9	29,22	39,06	84	96	2
3	8.4.2005	1020	523	458	22,3	25,95	2,54	1,8	0,1	28,75	36,25	73	96	3
4	1.4.2004	1030	575	500	20,6	6,56	0,64	1,4	0,5	22,34	32,66	72	99	4
5	1.4.2004	1045	560	495	21,1	28,3	2,71	1,2	0,8	23,6	40,47	87	97,5	5
6	8.4.2005	1055	586	516	20,5	25,25	2,39	1,6	0,1	15,63	30	46	87	6
7	6.4.2005	1095	582	517	21,2	28,06	2,56	0,5	0,4	29,38	38,75	47	82	7
8	24.3.2004	1100	565	500	22	18,6	1,69	0,1	0,2	21,56	38,91	63	98	8
9	24.3.2004	1170	565	490	23,9	24,71	2,11	0,8	0,8	23,75	21,88	50	63	9
10	24.3.2004	1240	550	490	25,3	38,25	3,08	0,3	0,6	20,47	36,56	36	63	10
11	24.3.2004	1250	570	500	25	25,72	2,06	1,4	1,2	19,38	35,47	34	53	11
12	24.3.2004	1260	580	510	24,7	14,53	1,15	2	0,3	21,41	42,19	63	82	12
13	6.4.2005	1265	569	493	25,7	21,39	1,69	0,8	0	21,88	31,25	57	84	13
14	24.3.2004	1270	590	515	24,7	28,02	2,21	0,8	1,5	23,44	33,13	63	71	14
15	24.3.2004	1320	605	530	24,9	38,1	2,89	0,8	0	24,69	36,56	70	77	15
16	6.4.2005	1355	608	541	25,1	24,25	1,79	1,8	0	20	40,63	37	82	16
17	24.3.2004	1390	600	515	27	38,18	1,94	2	1	19,38	26,72	62	64	17
18	8.4.2005	1420	608	542	26,2	37,18	2,62	0,5	0	25,63	21,88	47	88	18
19	1.4.2004	1440	610	540	26,7	58,22	4,04	1,9	0	26,88	26,09	71,5	97	19

tab. 25. Základní tabulka mlíčáků podle pořadových čísel 2/2

		EXTERIÉROVÉ HODNOTY				GONÁDY		OBJEM SPERMATU A MOČI		KONCENTRACE SPERMIÍ		SPERMATOKRYT		
poř.č.	**datum odběru**	**m[g]**	**TL[mm]**	**CL[mm]**	**KF**	**m_G (g)**	**GI (%)**	**Objem SPZ_V [ml]**	**Objem moči (ml)**	**SPZ_V [10^9/ml]**	**SPZ_T [10^9/ml]**	**SPZ_V (%)**	**SPZ_T (%)**	**poř.č.**
20	**6.4.2005**	1445	623	545	26,5	33,75	2,34	2,8	0,3	23,13	29,38	35	62	**20**
21	**24.3.2004**	1520	590	520	29,2	37,2	2,45	0,1	1	29,38	31,25	65	78	**21**
22	**24.3.2004**	1540	645	550	28	36,6	2,38	0,2	0,2	20	36,25	48,5	72	**22**
23	**1.4.2004**	1620	630	550	29,5	42,61	2,63	1	0,2	23,44	39,69	68,5	95,5	**23**
24	**14.4.2005**	1620	600	555	29,2	41,98	2,59	0,5	0,4	21,88	31,25	42	90	**24**
25	**8.4.2005**	1670	631	552	30,3	31,65	1,9	0,8	0	19,38	32,5	42	84	**25**
26	**8.4.2005**	1700	655	575	29,6	31,05	1,83	1,6	0,1	22,5	25,63	48	73	**26**
27	**24.3.2004**	1730	645	560	30,9	32,9	1,9	0,4	0,2	16,25	42,66	52	84	**27**
28	**24.3.2004**	1750	645	560	31,3	38,51	2,2	0,8	0,1	24,69	39,06	60	88	**28**
29	**24.3.2004**	1980	660	590	33,6	33,92	1,71	1,2	1,6	23,59	32,19	55	89	**29**
30	**24.3.2004**	2020	665	600	33,7	38,5	1,91	0,7	0,3	25	35,31	70	98	**30**
31	**1.4.2004**	2075	685	590	35,2	59,55	2,87	1,8	0,6	22,81	33,6	76	96,5	**31**
32	**14.4.2005**	2180	675	612	35,6	47,72	2,19	1,2	1,3	20	28,75	44	82	**32**
33	**14.4.2005**	2200	680	610	36,1	34,16	1,55	1,5	1	18,75	33,75	50	59	**33**
34	**1.4.2004**	2210	685	605	36,5	53,44	2,42	1,1	0,4	25,47	35,16	77	96	**34**
35	**8.4.2005**	2360	694	605	39	40,39	1,71	1	0	22,5	28,75	53	97	**35**
36	**6.4.2005**	2530	709	613	41,3	61,7	2,44	3,5	0,5	21,88	36,25	33	82	**36**
37	**14.4.2005**	2600	695	645	40,3	46,71	1,8	0,8	0,6	16,41	34,38	34	78	**37**

tab. 26. Osmolalita a ukazatele plodnosti u jednotlivých mlíčáků 1/1

	OSMOLALITA (mmol.kg^{-1})			UKAZATELE PLODNOSTI		
poř.č.	moč	SPZ_V	SPZ_T	APP [10^9]	RPP [10^9/kg]	ROP [ml/kg]
1	41	287	296	48,47	55,08	2,5
2	54	287	480	5,84	6,49	0,22
3	72	310	316	51,75	28,19	1,76
4	34	266	305	31,28	30,37	1,36
5	33	276	520	28,32	27,1	1,15
6	49	273	288	25,01	14,82	1,52
7	191	285	297	14,69	13,42	0,46
8	33	246	443	8,62	7,84	0,09
9	39	271	308	19	16,24	0,68
10	47	204	305	6,14	4,95	0,24
11	84	259	299	27,13	21,7	1,12
12	52	251	392	42,82	33,98	1,59
13	nebyla	261	299	17,5	13,83	0,63
14	81	276	339	18,75	14,76	0,63
15	nebyla	297	340	19,75	14,96	0,61
16	nebyla	272	315	36	26,57	1,33
17	82	273	305	38,76	27,88	1,44
18	nebyla	254	307	12,82	18,05	0,35
19	nebyla	292	309	51,07	35,47	1,32

tab. 27. Osmolalita a ukazatele plodnosti u jednotlivých mlíčáků 2/2

	OSMOLALITA (mmol.kg^{-1})			UKAZATELE PLODNOSTI		
poř.č.	moč	SPZ_V	SPZ_T	APP [10^9]	RPP [10^9/kg]	ROP [ml/kg]
20	66	282	308	64,76	44,82	1,94
21	52	234	506	2,94	1,93	0,066
22	82	267	368	4	2,6	0,13
23	36	278	373	23,44	14,5	0,62
24	75	239	345	10,94	6,75	0,31
25	nebyla	261	306	26	11,6	0,48
26	112	287	292	36	21,18	0,94
27	56	250	596	6,5	3,76	0,23
28	63	281	469	19,75	11,29	0,46
29	52	282	364	28,31	14,3	0,61
30	58	276	442	17,5	8,66	0,35
31	37	289	394	41,06	19,79	0,87
32	117	314	326	24	11,01	0,55
33	100	296	310	28,13	12,79	0,68
34	27	281	425	28,02	12,68	0,5
35	nebyla	271	307	22,5	9,53	0,42
36	80	265	320	76,58	30,27	1,38
37	132	293	336	13,13	5,05	0,31

tab. 28. Pohyblivost, životnost a celková doba pohybu spermií u jednotlivých mlíčáků 1/2

		VYTŘENÉ SPERMA							TESTIKULÁRNÍ SPERMA						OSMOLALITA		
		destilovaná voda + BSA			moč				destilovaná voda + BSA			moč			mosmol.kg^{-1}		
poř.č.	čas (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	poř.č.	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	moč	SPZ $_V$	SPZ$_T$
19	15	183,12	93,33	60				19							nebyla	292	309
	30	86,76	71,43														
	45	25,22	29,41														
23	15	168,49	56,76	60				23							36	278	373
	30	68,83	33,33														
	45	22,73	5,56														
34	15	121,16	92,59	60				34							27	281	425
	30	46,63	41,67														
	45	28,64	4,35														
4	15	173,35	97,22	66,67	161,1	97,32	76,67	4							34	266	305
	30	72,84	47,96		93,88	78,62											
	45	25,9	15,18		47,45	34,38											
	60	7,33	4,11		18,55	29,18											
5	15	182,72	99	63,33	172,85	98,93	76,67	5							33	276	520
	30	77,09	80,9		100,08	94,58											
	45	34,43	22,83		42,67	55,21											
	60	8,28	5,86		13,27	11,51											
31	15	172,58	98,85	53,33	141,14	81,69	66,67	31							37	289	394
	30	63,63	12,15		71,48	20,05											
	45	12,19	4,36		25,96	5,85											
2	15	167,11	91,11	68,33	174,94	84,67	81,67	2							54	287	480
	30	78,22	64,81		107,24	76,32											
	45	30,68	23,25		48,88	62,66											
	60	9,1	7,75		15,99	16,2											
20	15	158,9	94,21	56,67				20	164,18	70,8	58,33	149,91	93,11	66,67	66	282	308
	30	30,8	27,76						35,37	36,22		49,76	82,85				
	45	12,91	12,34						18,34	8,1		16,35	48,68				
	60	2,27	6,67						1,15	0,68		4,01	4,39				

tab. 29. Pohyblivost, životnost a celková doba pohybu spermií u jednotlivých mlíčáků 2/2

		VYTŘENÉ SPERMA						TESTIKULÁRNÍ SPERMA						OSMOLALITA		
		destilovaná voda + BSA			moč			destilovaná voda + BSA			moč			mosmol.kg^{-1}		
poř.č.	čas (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	poř.č.	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	rychlost (µm/s)	přežití (%)	konec pohybu (s)	moč	SPZ $_V$	SPZ$_T$
7	15	159,82	75,28	52				7	174,9	92,9	58,33	177,57	92,66	95	191	285	297
	30	34,04	57,39						37,75	47,88		166,2	87,84				
	45	6,85	14,01						10,03	11,07		126,17	65,48				
	60								1,91	3,03		73,64	27,56				
13	15	173,7	58,24	49,67				13	194,52	63,3	48,33				nebyla	261	299
	30	42,69	25,31						35,13	14,8							
	45	10,8	2,83						22,99	2,95							
36	15	142,8	25	50				36	160,02	51,6	51,33	201,23	56,21	61	80	265	320
	30	39,45	6,65						28,55	37,6		106,6	54,51				
	45	16,11	2,53						12,19	12,38		52,23	15,21				
	60											16,01	1,39				
16	15	140,1	16,33	45				16	159,08	60,04	41,33				nebyla	272	315
	30	36,56	8,73						37,08	13,16							
	45								5,36	0,31							
18	15	152,18	4,1	35				18	173,07	18,56	40				nebyla	254	307
	30	59,36	2,42						47,04	9,17							
6	15	172,95	21,13	33,33				6	150,78	81,99	51,67	161,01	92,57	67,5	49	273	288
	30	22,78	7,13						34,6	57,92		97,08	67,9				
	45								17,98	6,19		30,29	17,98				
	60											14,46	5,87				
3	15	150,44	38,82	49				3	184,09	69,89	56	204,16	90	77,5	72	310	316
	30	61,43	28,18						48,87	56,84		123,16	77,71				
	45	11,84	2,69						17,04	9,26		57,48	53,06				
	60											39,47	14,09				
25	15	108,65	5,7	35				25	185,03	69,94	51				nebyla	261	306
	30	28,58	2,2						92,62	39,23							
	45								23,77	4,4							
35	15	147,02	55,16	53,33				35	176,09	60,37	50				nebyla	271	307
	30	51,73	52,61						37,41	45,84							
	45	21,88	6,4						12,46	2,02							

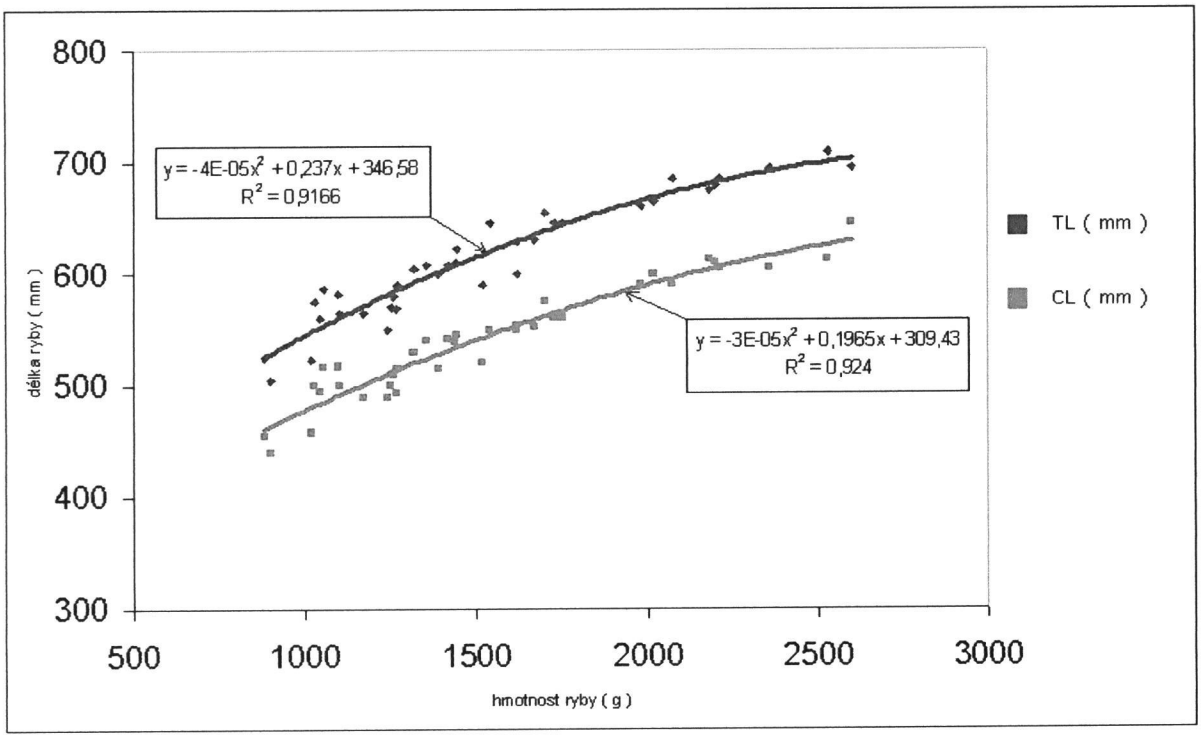
tab. 30. Statisticky zpracovaná data pro jednotlivé ukazatele

		N	Ø	Směrodat. odchylka	Int. Spolehl. -95,00%	Int. Spolehl. +95,00%	Rozptyl	Směrodat. chyba	Medián	Minimum	Maximum
Exteriérové hodnoty	hmotnost (g)	37	1547,32							880	2600
	TL (mm)	37	613,19							505	709
	CL (mm)	37	540,11							440	645
	KF	37	28,16	5,97	26,17	30,15	35,7	0,98	26,67	19,34	41,27
Gonády	GI (%)	37	2,26	0,64	2,04	2,47	0,41	0,11	2,21	0,64	4,04
	m_G (g)	37	34,64	11,94	30,66	38,62	142,54	1,96	33,92	6,56	61,7
Objem spermatu a moči	SPZ_V (ml)	37	1,16	0,76	0,91	1,42	0,58	0,13	1	0,1	3,5
	moč (ml)	37	0,47	0,45	0,32	0,62	0,21	0,07	0,3	0	1,6
Koncentrace spermií	SPZ_V (10^9/ml)	37	22,61	3,46	21,45	23,76	11,98	0,57	22,5	15,63	29,38
	SPZ_T (10^9/ml)	37	33,69	5,25	31,94	35,44	27,61	0,86	33,75	21,88	42,66
Spermatokryt	SPZ_V (%)	37	56,04	14,83	51,1	60,99	219,99	2,44	55	33	87
	SPZ_T (%)	37	82,72	12,77	78,46	86,98	163,19	2,1	84	53	99
Osmolalita (mosmol / kg)	moč	30	67,9	35,47	54,65	81,15	1258,37	6,48	57	27	191
	SPZ_V	37	272,59	21,36	265,47	279,72	456,19	3,51	276	204	314
	SPZ_T	37	358,11	76,53	332,59	383,62	5856,1	12,58	320	288	596
Ukazatele plodnosti	APP (10^9)	37	26,41	16,93	20,77	32,06	286,47	2,78	24	2,94	76,58
	RPP (10^9/kg)	37	17,68	12	13,68	21,68	144,01	1,97	14,5	1,93	55,08
	ROP (ml/kg)	37	0,81	0,58	0,61	1	0,34	0,1	0,62	0,07	2,5

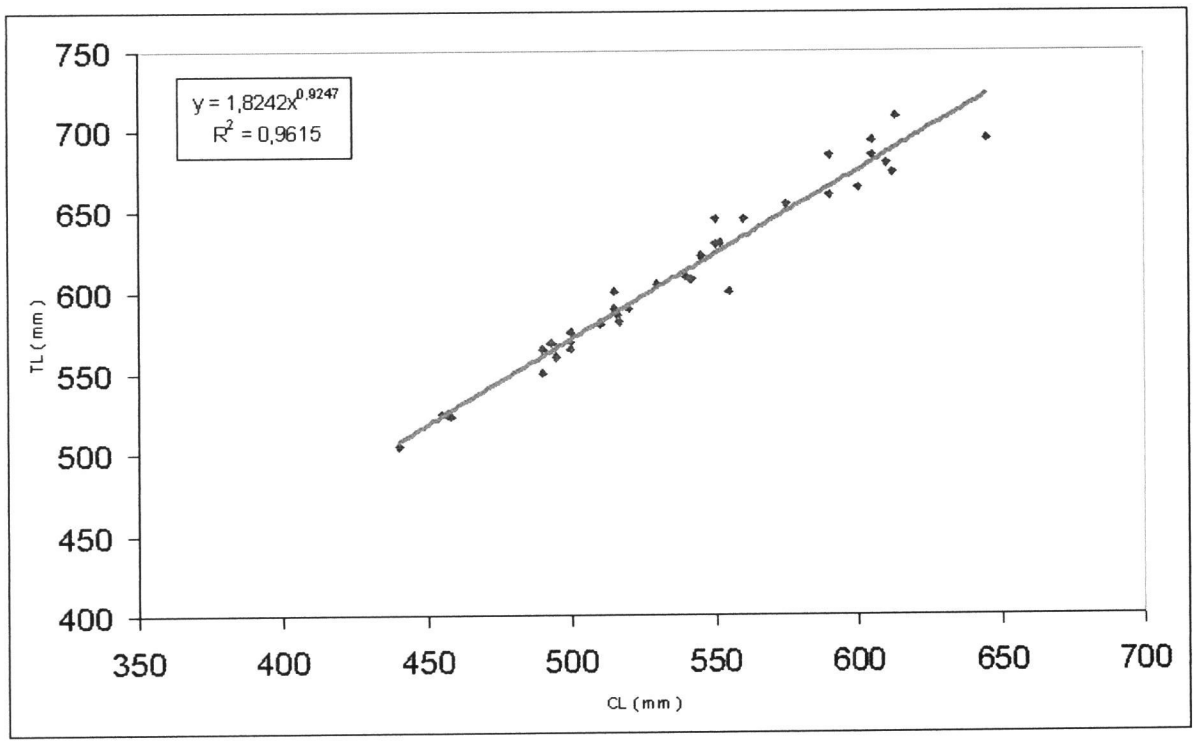
tab. 31. Statisticky zpracovaná data pro rychlost pohybu, přežití a celkovou dobu pohybu spermií

			čas	N	Ø	Směrodat. odchylka	Int. Spolehl. -95,00%	Int. Spolehl. +95,00%	Rozptyl	Směrodat. chyba	Medián	Minimum	Maximum
SPZ_V	*Dest. voda + BSA*	Rychlost ($\mu m.s^{-1}$)	15	451,00	163,32	39,59	159,65	166,98	1567,64	1,86	166,31	56,92	413,36
			30	312,00	58,97	28,71	55,77	62,17	824,12	1,63	55,09	0,65	143,87
			45	163,00	17,73	15,43	15,34	20,11	238,10	1,21	16,64	0,00	63,17
			60	75,00	3,93	6,14	2,51	5,34	37,74	0,71	0,00	0,00	23,24
		Přežití (%)	15	42,00	59,26	36,75	47,81	70,71	1350,70	5,67	62,13	2,34	100,00
			30	42,00	33,42	27,27	24,92	41,92	743,66	4,21	27,13	1,18	88,33
			45	42,00	8,40	9,72	5,38	11,43	94,46	1,50	4,35	0,00	29,41
			60	42,00	1,38	3,40	0,32	2,45	11,59	0,53	0,00	0,00	12,50
		doba pohybu (s)		42,00	50,69	11,44	47,13	54,26	130,90	1,77	50,00	35,00	75,00
	Moč	Rychlost ($\mu m.s^{-1}$)	15	195,00	165,60	35,62	160,57	170,63	1268,43	2,55	168,02	68,11	301,53
			30	136,00	97,01	30,71	91,80	102,22	943,17	2,63	99,22	23,20	165,51
			45	123,00	41,75	22,38	37,75	45,75	501,07	2,02	41,11	0,00	103,51
			60	62,00	12,76	10,48	10,10	15,42	109,85	1,33	11,84	0,00	47,05
		Přežití (%)	15	12,00	90,65	14,04	81,73	99,58	197,18	4,05	97,47	56,96	100,00
			30	12,00	67,39	32,99	46,43	88,35	1088,62	9,52	80,70	7,46	97,75
			45	12,00	39,52	28,24	21,58	57,47	797,68	8,15	38,90	0,00	86,11
			60	12,00	14,22	11,74	6,77	21,68	137,77	3,39	12,92	0,00	36,11
		doba pohybu (s)		12,00	69,17	10,84	62,28	76,05	117,42	3,13	70,00	45,00	80,00
SPZ_T	*Dest. voda + BSA*	Rychlost ($\mu m.s^{-1}$)	15	370,00	172,49	38,67	168,53	176,44	1495,58	2,01	172,34	57,53	289,68
			30	209,00	47,30	28,45	43,42	51,18	809,39	1,97	36,49	14,99	156,17
			45	91,00	15,69	10,50	13,50	17,88	110,30	1,10	14,83	0,00	53,39
			60	29,00	0,32	1,22	-0,15	0,78	1,49	0,23	0,00	0,00	5,72
		Přežití (%)	15	29,00	64,99	23,65	55,99	73,98	559,22	4,39	69,32	12,68	100,00
			30	29,00	33,41	23,55	24,45	42,37	554,77	4,37	29,90	2,41	94,74
			45	29,00	5,95	6,50	3,48	8,42	42,28	1,21	4,41	0,00	31,37
			60	29,00	0,38	1,72	-0,27	1,04	2,95	0,32	0,00	0,00	9,09
		doba pohybu (s)		28,00	49,61	5,49	47,48	51,74	30,17	1,04	50,00	35,00	65,00
	Moč	Rychlost ($\mu m.s^{-1}$)	15	176,00	173,27	38,13	167,59	178,94	1453,99	2,87	170,49	70,31	266,52
			30	132,00	104,94	44,83	97,22	112,66	2009,94	3,90	102,75	20,41	224,82
			45	111,00	62,40	46,09	53,73	71,07	2124,14	4,37	41,94	6,87	202,14
			60	50,00	26,35	30,01	17,82	34,88	900,75	4,24	15,41	0,00	112,19
		Přežití (%)	15	15,00	87,57	11,46	81,23	93,92	131,40	2,96	92,30	58,33	96,77
			30	15,00	74,32	14,80	66,13	82,52	218,92	3,82	75,26	47,83	97,44
			45	15,00	38,69	20,94	27,09	50,29	438,61	5,41	37,50	9,52	69,05
			60	15,00	11,01	10,87	5,00	17,03	118,09	2,81	7,09	0,00	37,50
		doba pohybu (s)		15,00	73,00	13,70	65,41	80,59	187,68	3,54	70,00	50,00	95,00

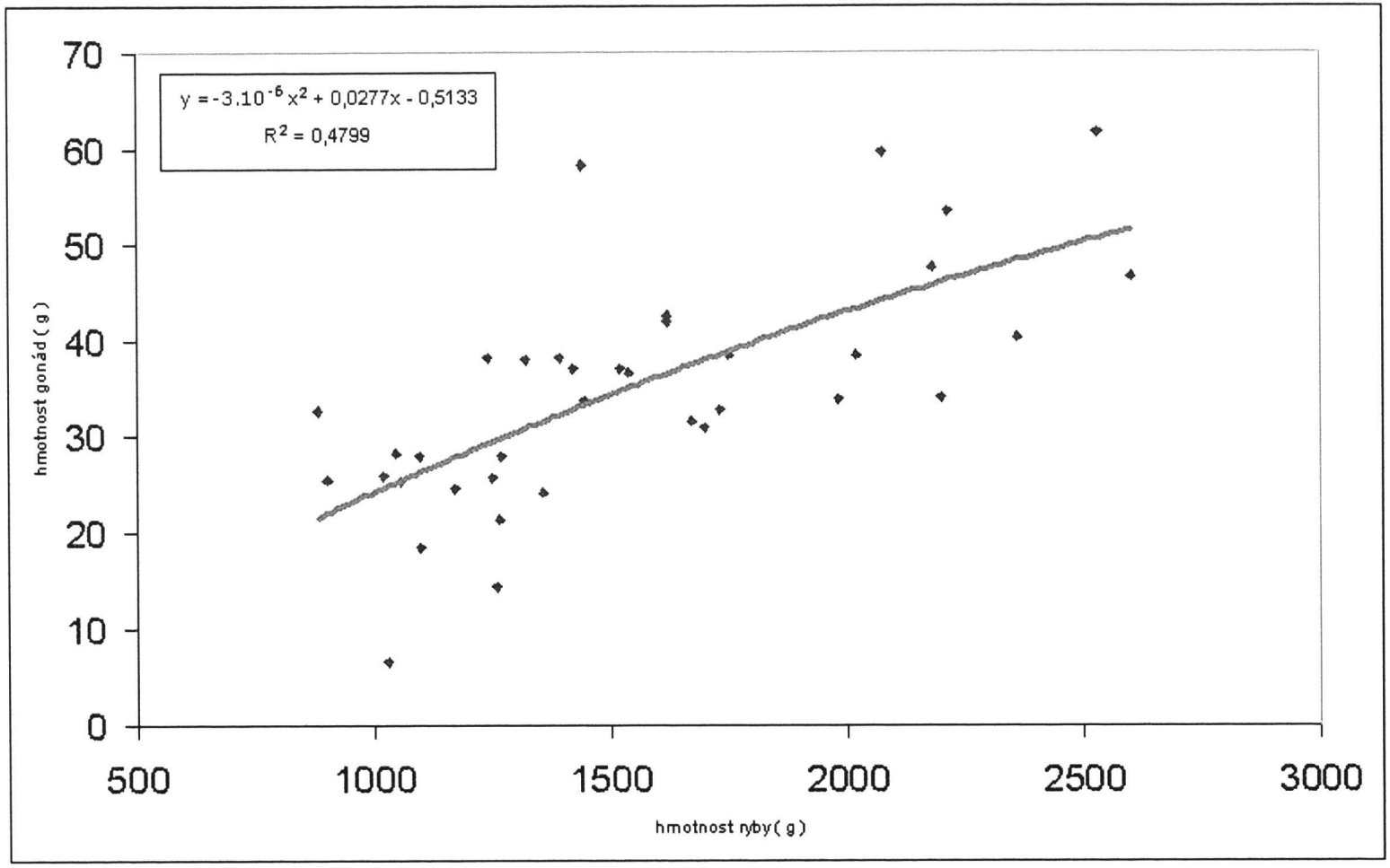
graf 16. Závislost délky těla (CL) a celkové délky (TL) na hmotnosti ryby



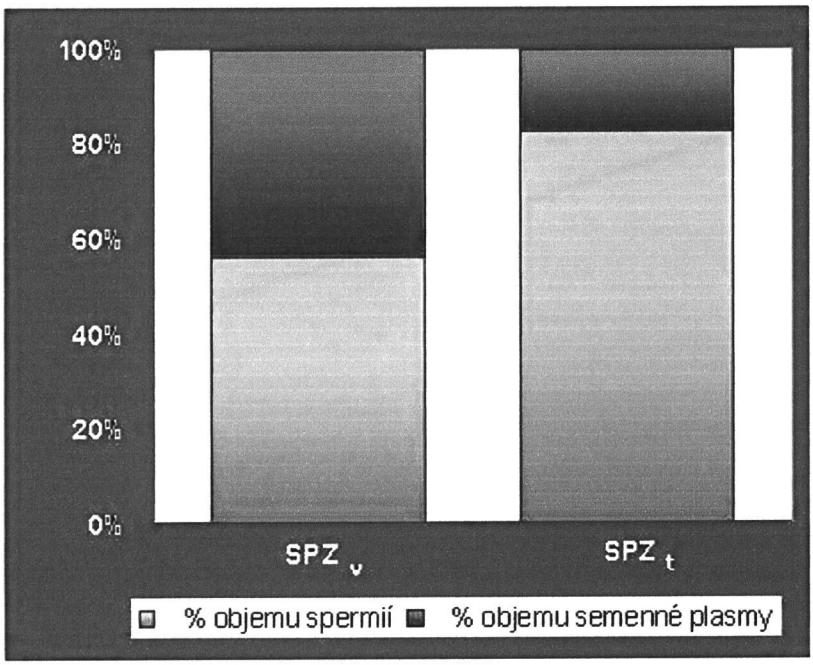
graf 17. Závislost celkové délky (TL) na délce těla (CL)



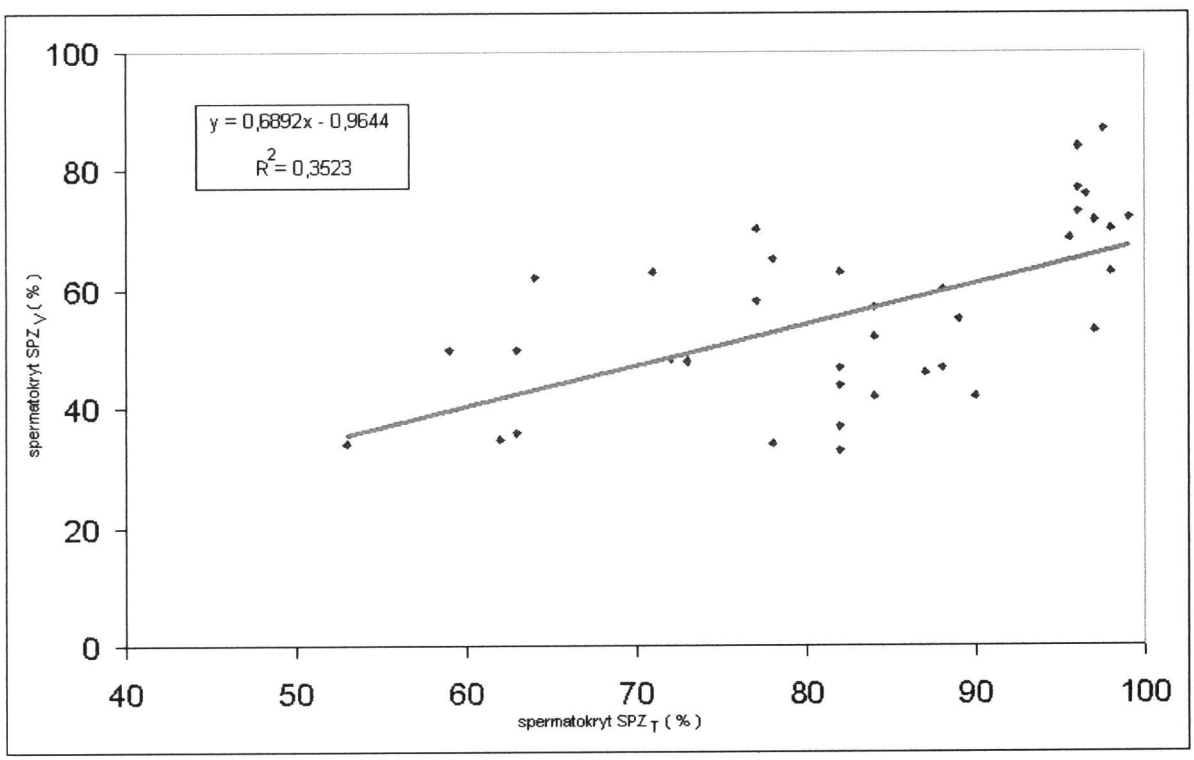
graf 18. Závislost hmotnosti gonád na celkové hmotnosti ryby



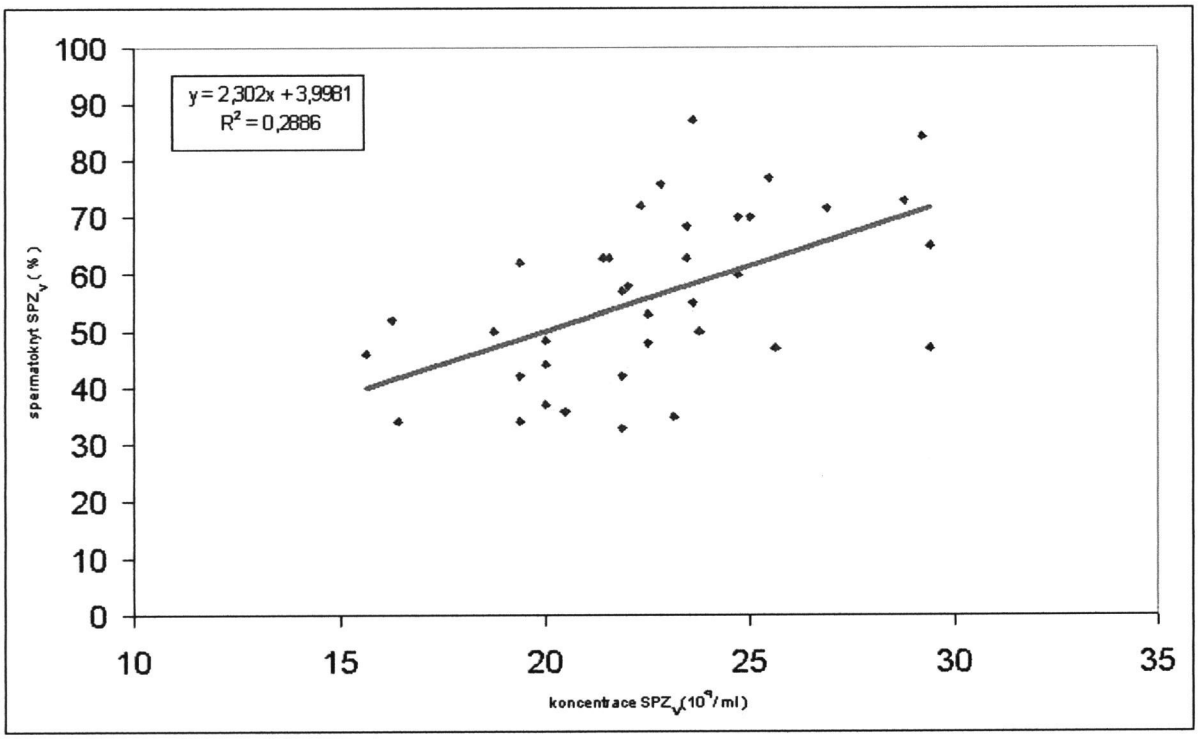
graf 19. Rozdíl mezi spermatokryty vytřeného a test. spermatu



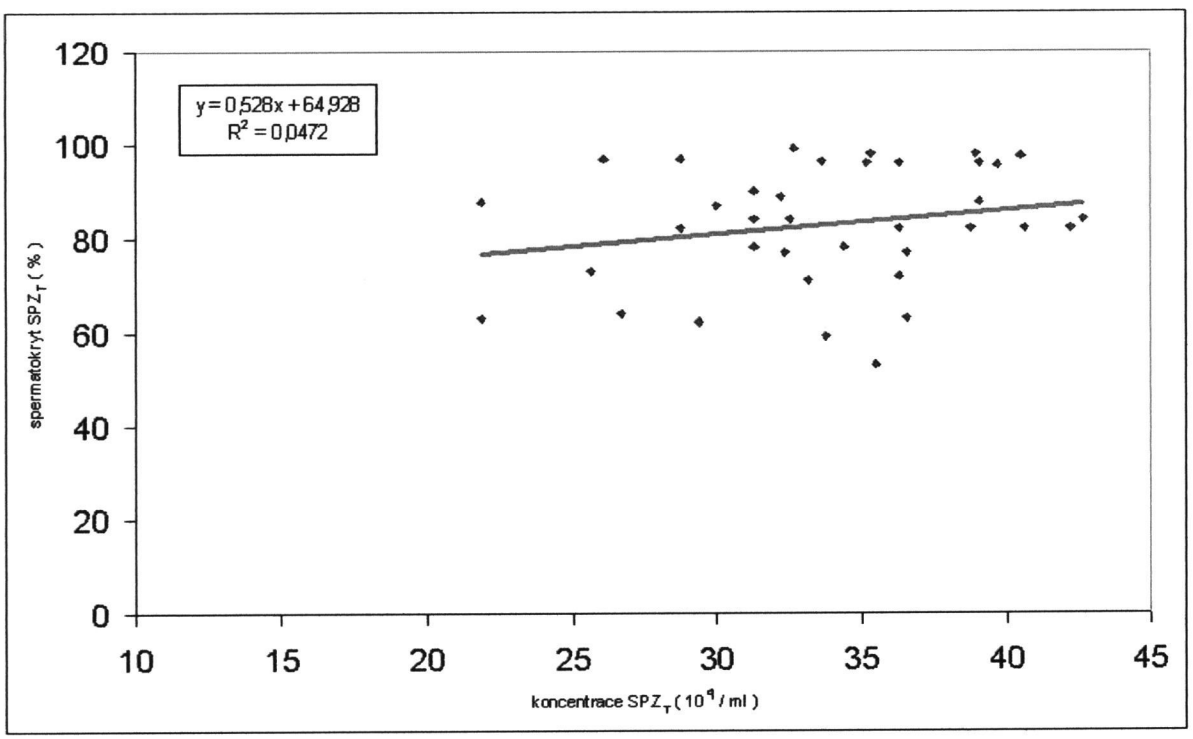
graf 20. Závislost spermatokrytu SPZ_V na spermatokrytu SPZ_t



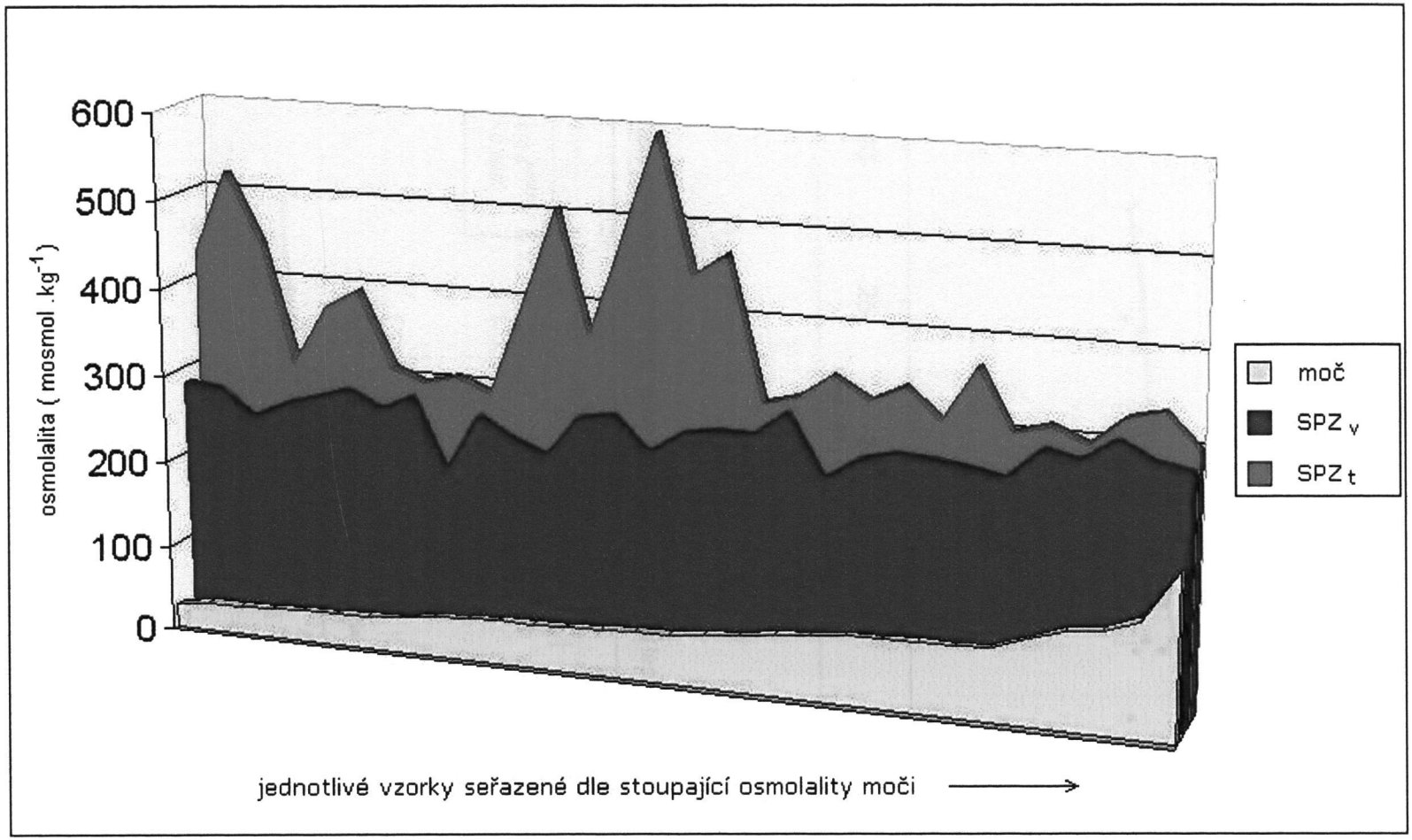
graf 21. Závislost spermatokrytu vytřeného spermatu na koncentraci vytřeného spermatu



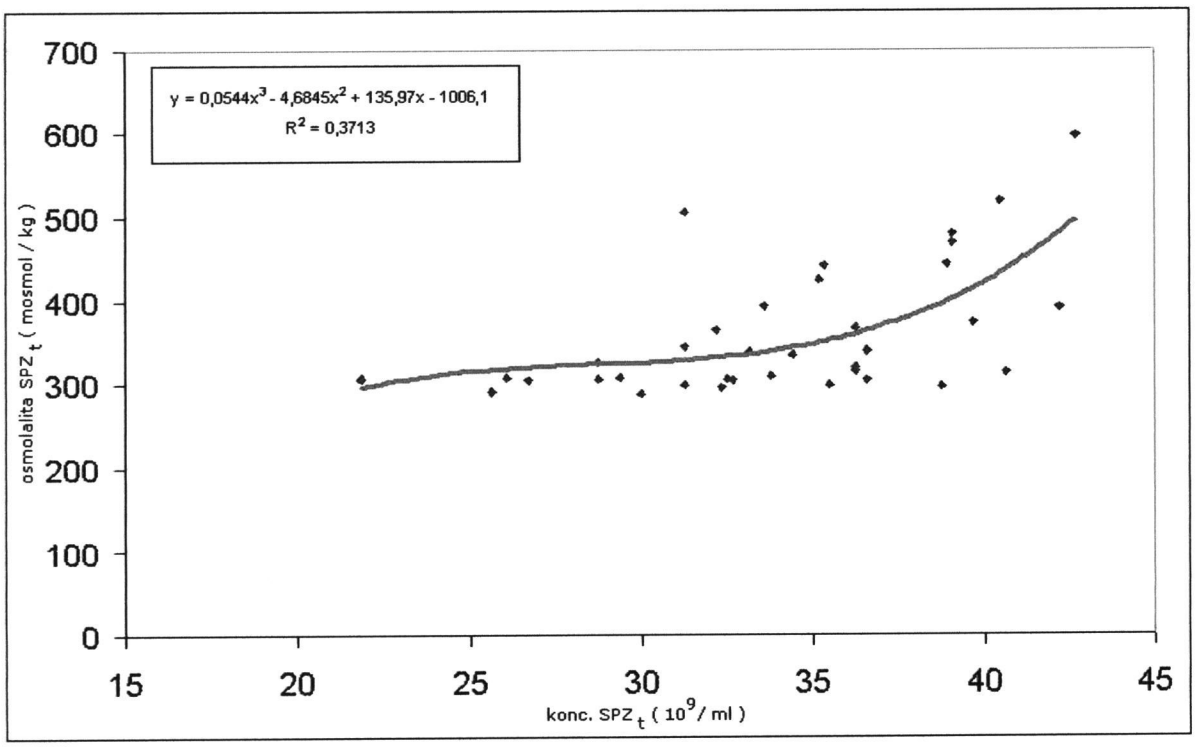
graf 22. Vztah mezi koncentrací test. spermatu a spermatokrytem test. spermatu



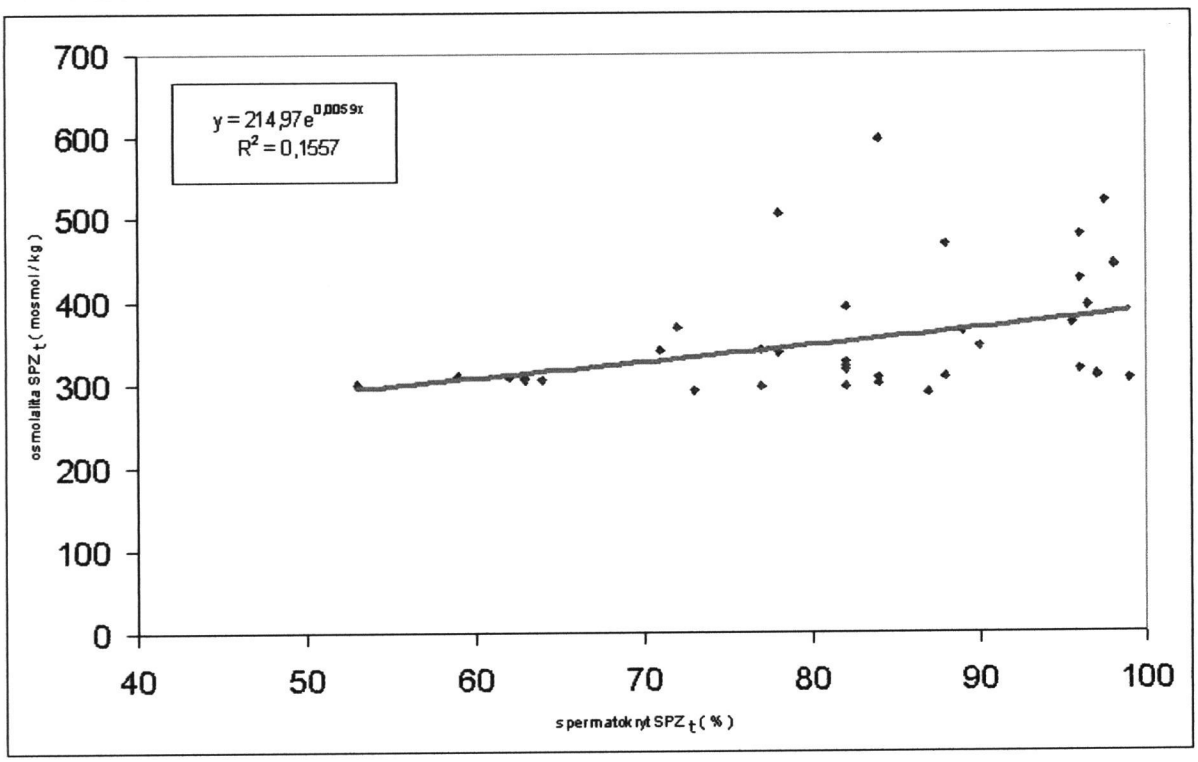
graf 23. Hodnoty osmolalit moči, semenné plasmy vytřeného a testikulárního spermatu seřazené podle stoupající osmolality moči



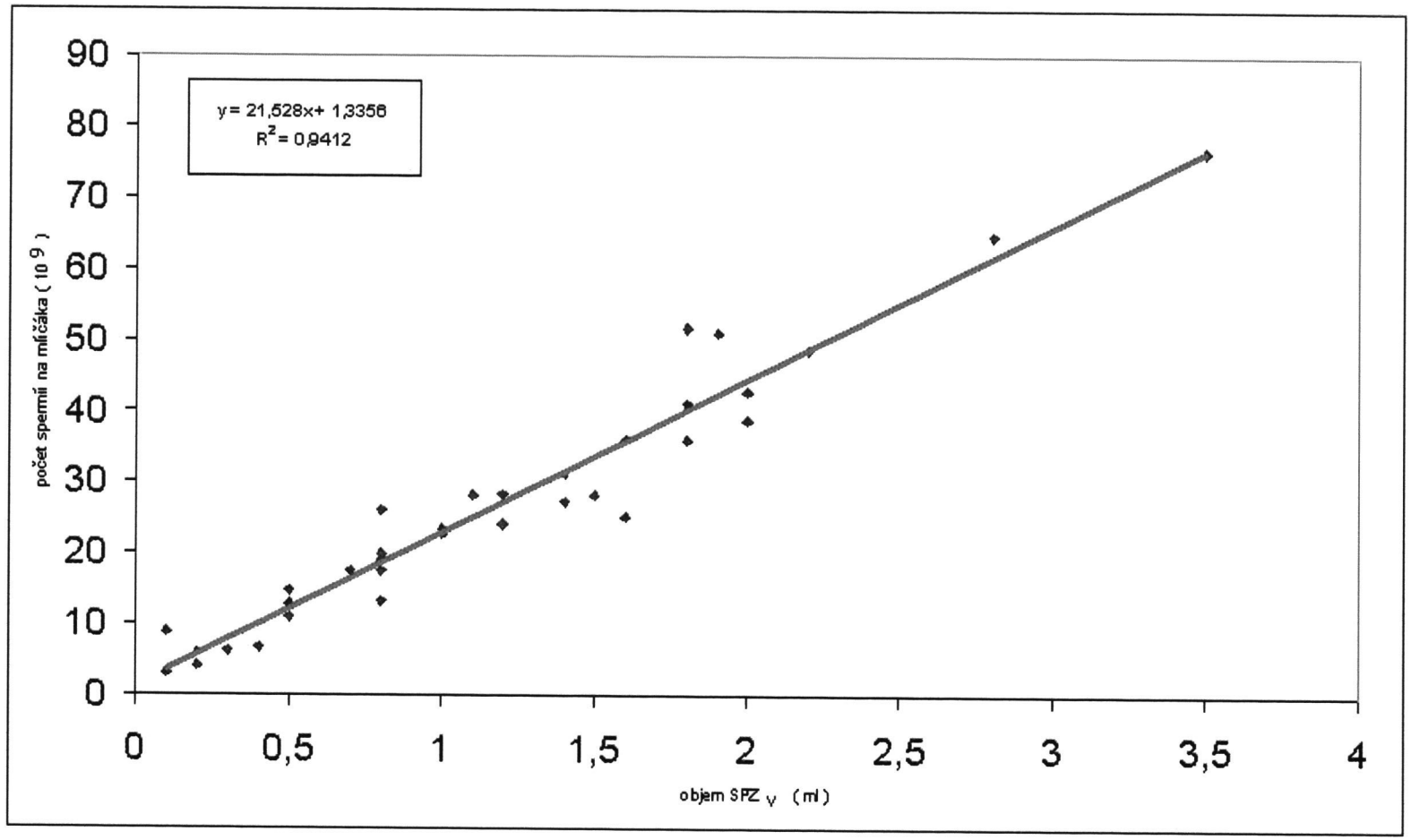
graf 24. Závislost osmolality semenné plasmy test. spermatu na koncentraci test. spermatu



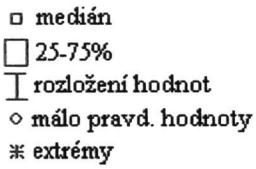
graf 25. Závislost osmolality semenné plasmy test. spermatu na spermatokrytu test. spermatu



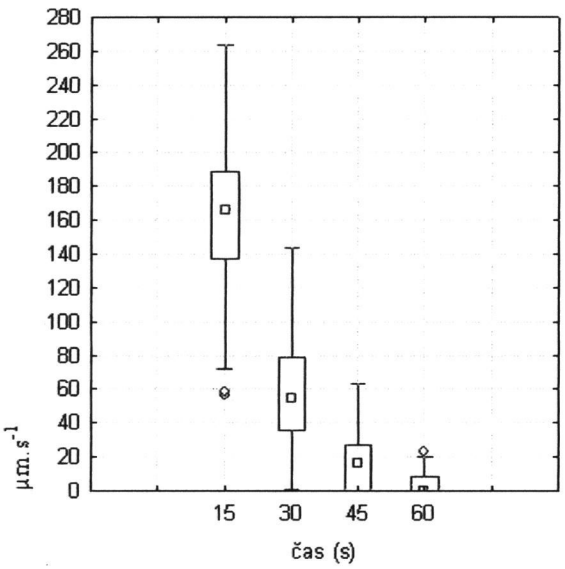
graf 26. Závislost APP (absolutní pracovní plodnosti) na objemu vytřeného spermatu



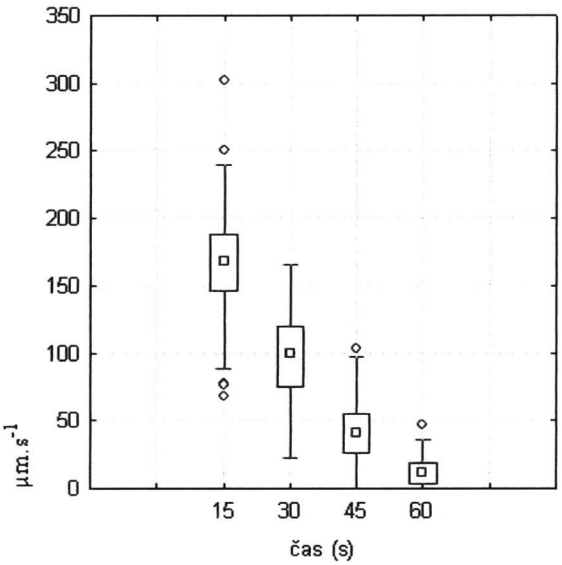
Grafy 27-30. Grafy závislosti rychlosti pohybu spermií na čase



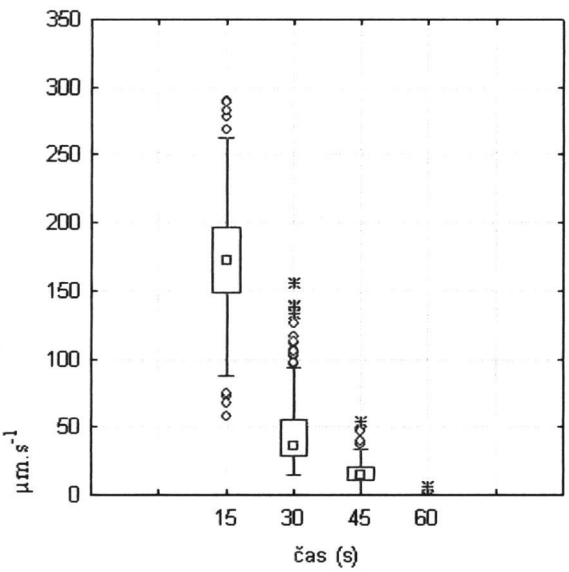
graf 27. Vytřené sperma + destilovaná voda



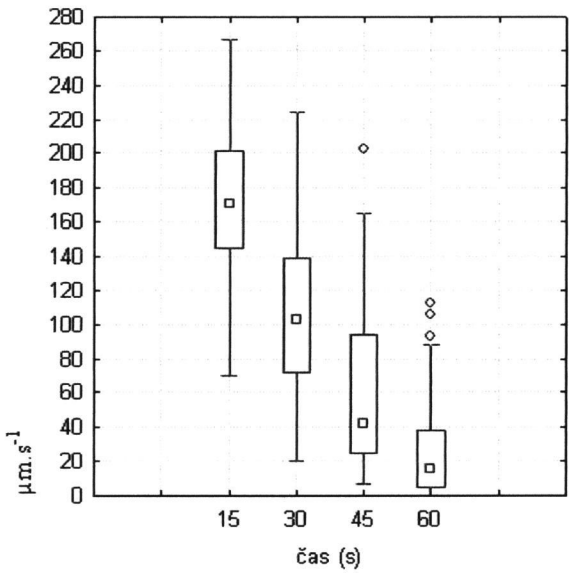
graf 28. Vytřené sperma + moč



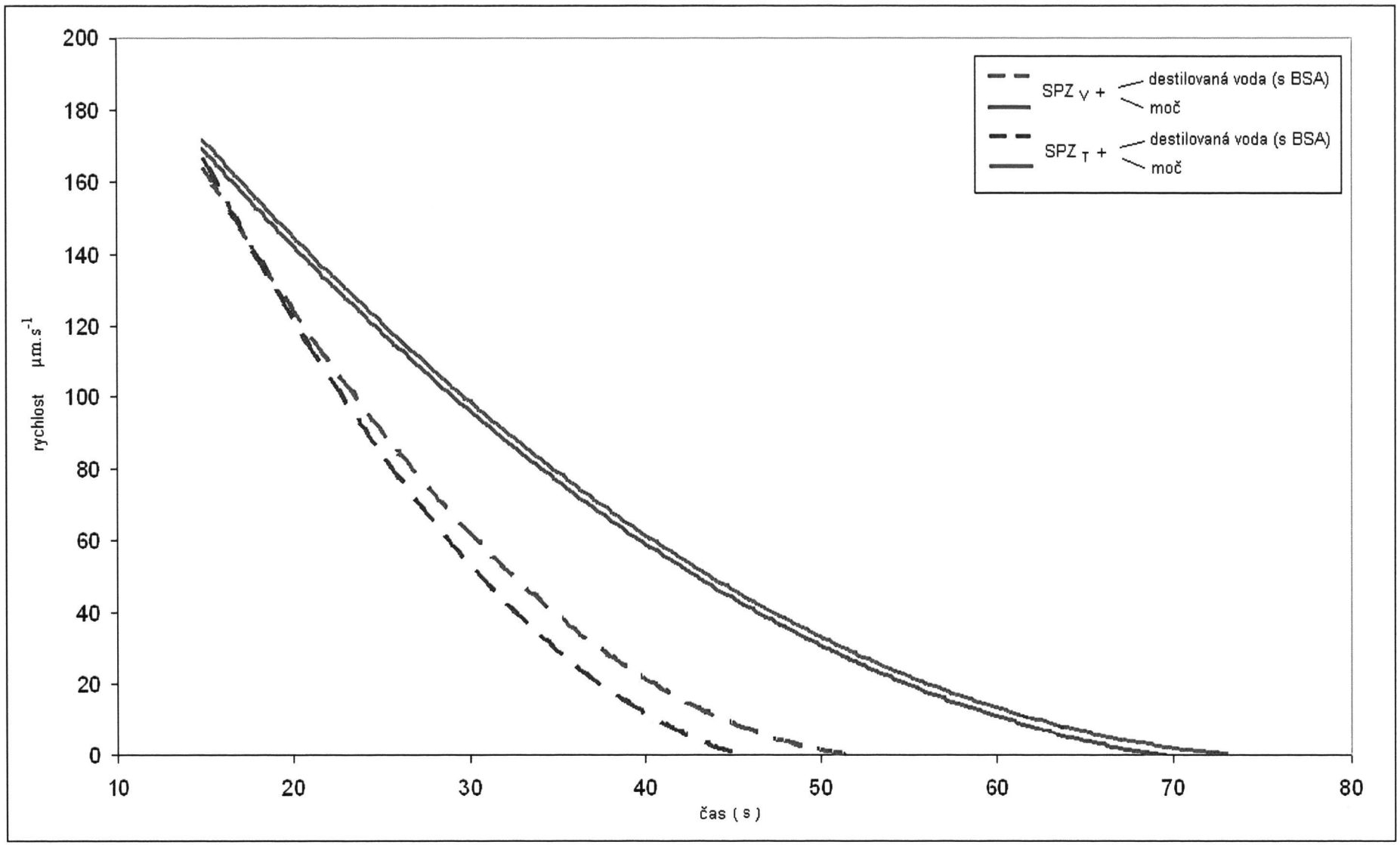
graf 29. Testikulární sperma + destilovaná voda



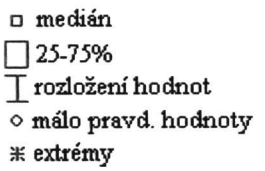
graf 30. Testikulární sperma + moč



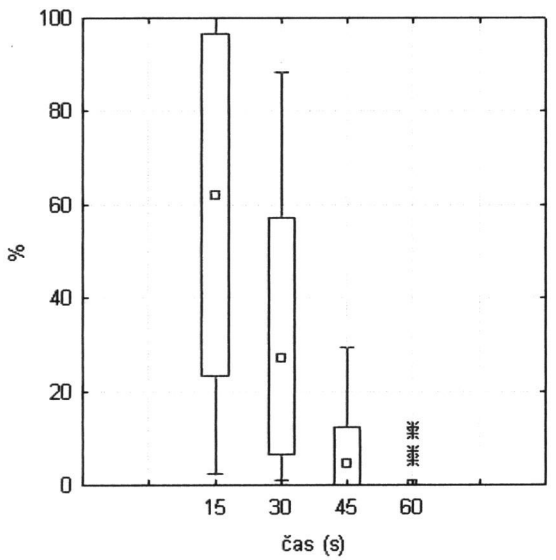
graf 31. Mediánový graf závislosti rychlosti pohybu na čase (hodnoty proložené kvadratickou křivkou)



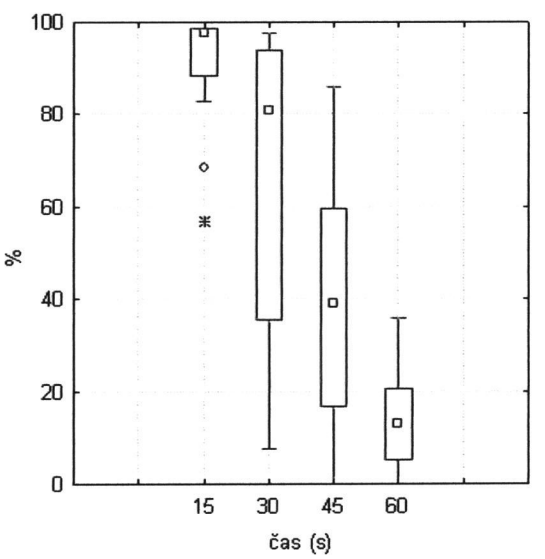
Grafy 32-35. Grafy závislosti procenta pohyblivých spermií spermií na čase



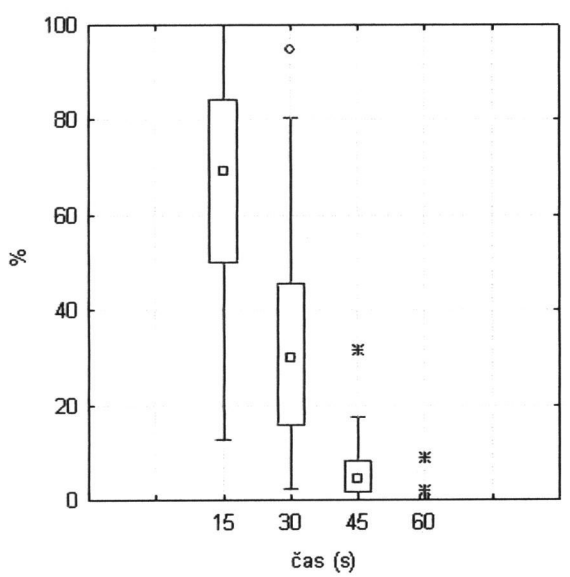
graf 32. Vytřené sperma + destilovaná voda



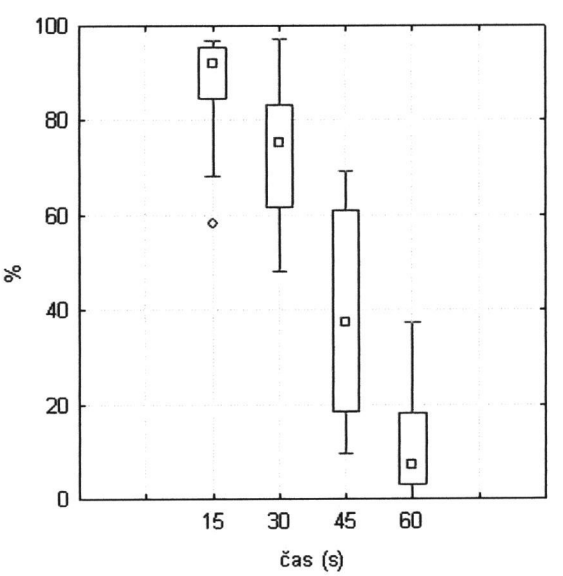
graf 33. Vytřené sperma + moč



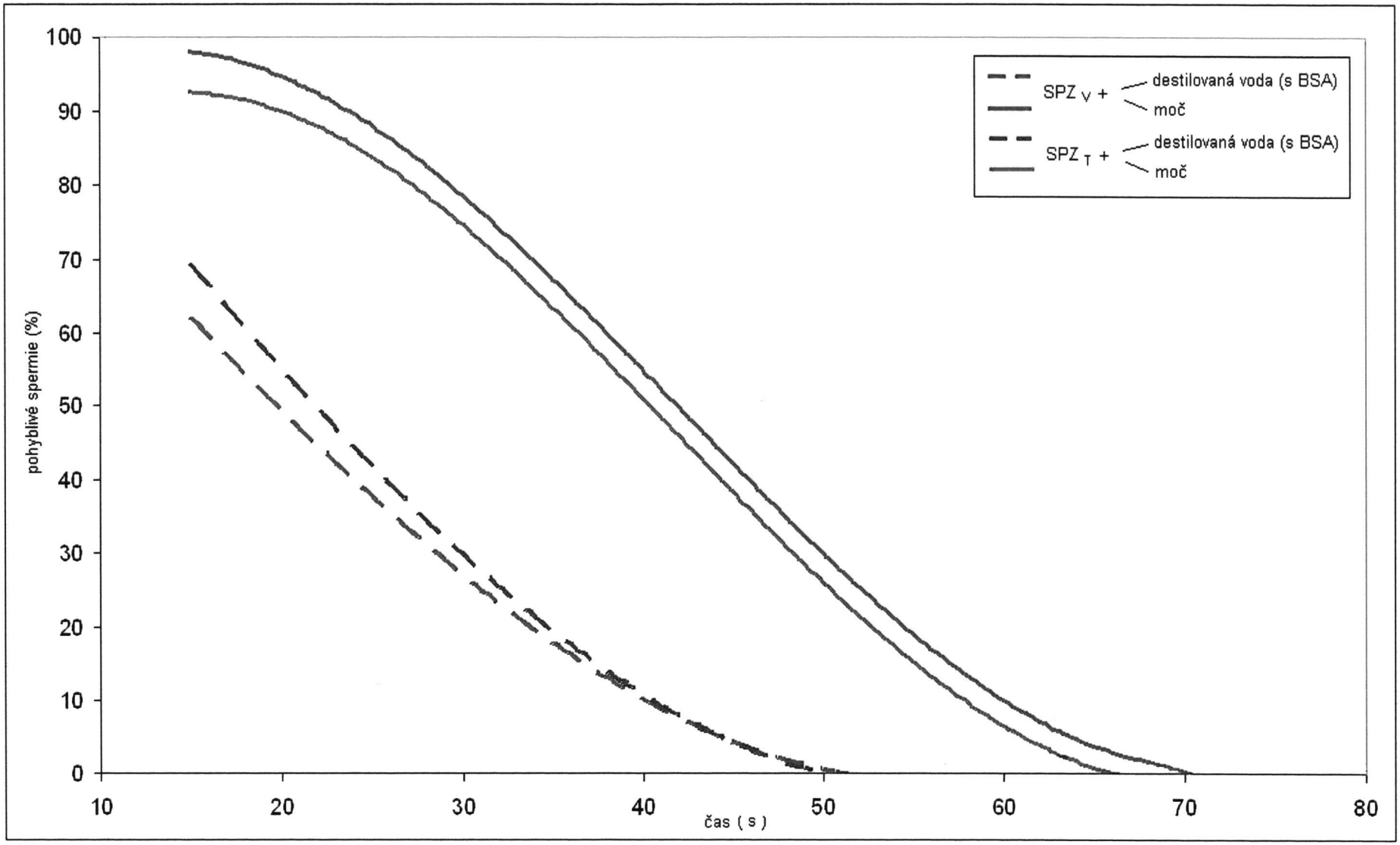
graf 34. Testikulární sperma + destilovaná voda



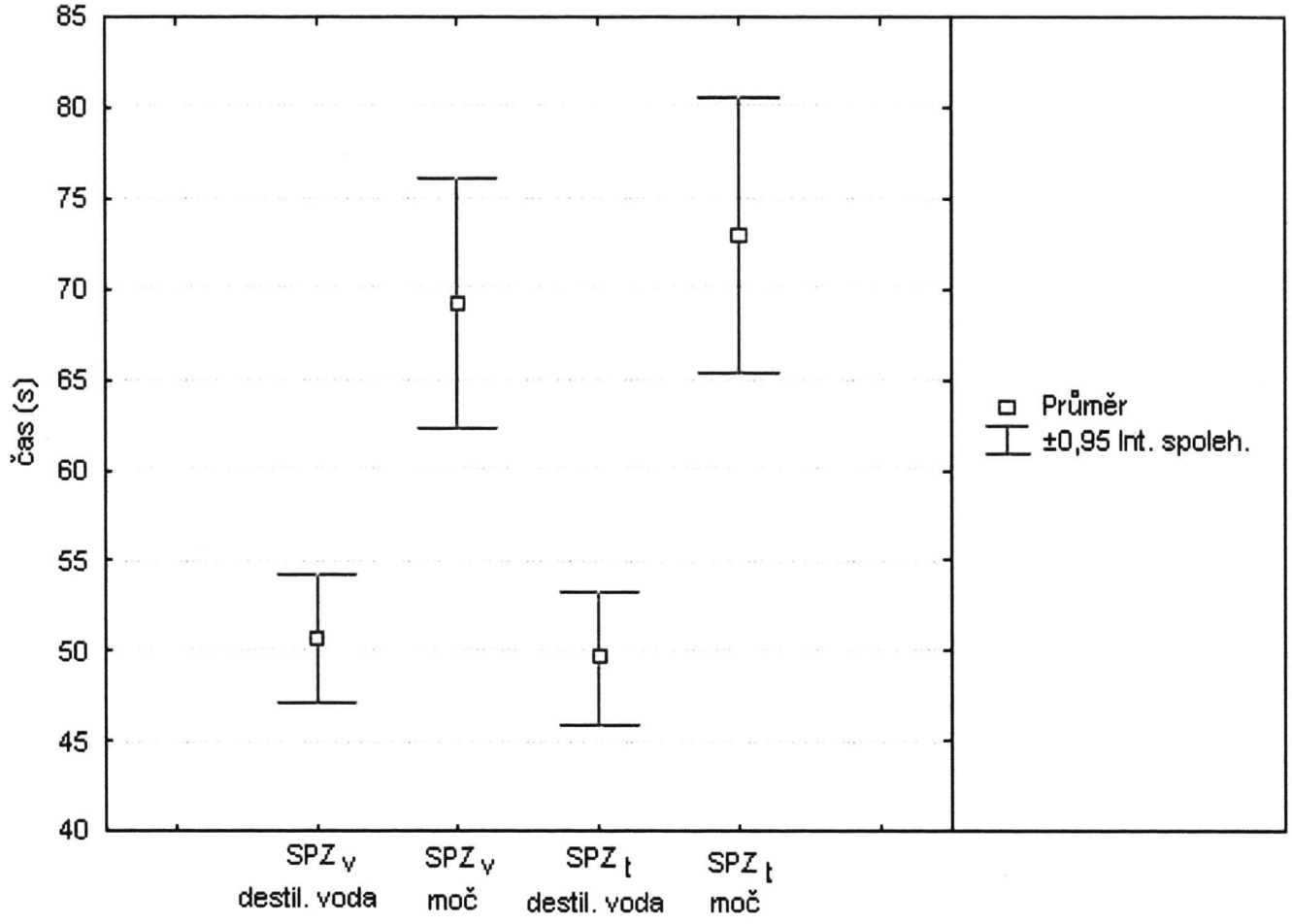
graf 35. Testikulární sperma + moč



graf 36. Mediánový graf závislosti procenta pohyblivých spermií na čace (hodnoty proloženy kvadratickou křivkou)



graf 37. Intervalový graf celkových dob pohybů spermií



Burnashova S.A., 1960 : Znachenie processove fosforilirovanija v. osushchestvlenii dvigatelnoj funkcii semennoj kletki. In : Fosforilirovanije i funkcija. Leningrad, Nauka. pp. 231-242.
Burnashova S.A., 1982 : Biochemistry of motility spermatozoa. In. Sovremennyje problem spermatogenez. Nauka. pp. 225-249.
Buss K., 1961 : The northern pike. Spec. Purp. Rep., 58.
Calderon-Andreau E.G., 1955 : Acclimatation du brochet en Espagne. Verh. int. Ver. theor. angew. Limnol., 12 : 536-542.
Carbine W.F., 1942 : Observations on the life history of the northern pike (Esox lucius L.) in Houghton Lake, Michigan. Trans. Am. Fish. Soc., 71 : 149-164.
Carbine W.F., 1945 : Growth potential of the northern pike (Esox lucius). Pap. Mich. Ac. Sci., 30 : 205-220.
Carbine W.F. et Applegate V.C., 1946 : The movement and growth of marked northern pike (Esox lucius L.) in Houghton Lake and the Muskegon River. Pap. Mich. Ac. Sci., 32 : 215-238.
Casselman J. M., 1974 : External sex determination of northern pike. Trans. Am. Fish. Soc. 2: 343-347.
Christien R. et al., 1987 : Trout sperm motility : The transient movement of trout sperm is related to changes in the concentration of ATP following the activation of fragellar movement. J. Biochem. 166 : 667-671.
Clark C.F., 1950 : Observations on the spawning habits of the Northern pike Esox lucius in north-western Ohio. Copeia, 1950 (4) : 285-288.
Clemens H.P. et Grant F.B., 1965 : The seminal thinning response of carp (Cyprinus carpio) and rainbow trout (Salmo g.) after injection pituitary extracts. Cop. 2 : 174-177.
Cosson M.P. et al., 1986 : Control of fragellar movement in "9+2" spermatozoa : Calcium and cyclic AMP dependence, chemotactic behavior. Cell Motil. Cytoskeleton 14 : 424-434.
Cruea D.D., 1969 : Some chemical and physical characteristics of fish sperm. Trans.Am.Fish.Soc. 98 : 785-788
Curties B.J. et Wood C.M., 1991 : The function of urinary bladder in vivo in the fresh-water rainbow trout. J. Experiment. Biol., 155 : 567-583.
Červinka S. et Pecha O., 1975 : Hematologické hodnoty a celková bílkovina v krevním séru štiky obecné (Esox lucius L.) z rybničního chovu v období po výtěru. Živoč. výroba, 20 (11) : 861-865.
Čihař J., 1956 : Příspěvek k poznání ranného vývoje štiky (Esox lucius L.). Acta Univ. Carolinae, Biologica, 2 (1) : 1-12.
Čihař J., 1961 : Růst ryb ve Slapské údolní nádrži v r.1959. Sb. ČSAZV, Živoč. výroba, 6 (4) : 295-302.
Davidsson M.T., 1972 : Karyotypes of the teleost family Esocidae. J. Fish. Res. Bd. Canada, 29 (5) : 579-582.
Demčenko I.F., 1963 : O različii polov u ščuki (Esox lucius L.). Vopr. ichtiol., 31 (26) : 190-197.
Diana J.S. et Mackay W.C., 1979 : Timing and magnitude of energy deposition and loss in the body, liver and gonads of Northern pike (Esox lucius L.) J.Fish.Res.Board Can.36:481-487.
Dreanno C. et al., 1998 : Effect of urine on semen quality in turbot (Scopthalmus maximus), Aquaculture 169 : 247-262.
Drozdov A. et al., 1981 : Ossobenosti gistologicheskogo stroenija semenikov i ultrastruktura spermatozoidov gorbushi. Biol. Morya. (1) : 54-80.
Duplinsky D.P., 1982 : Sperm motility of Northern Pike and Chain Pickerel at various pH values. Trans. Am. Fish. Soc., 111 : 768-771.
Dyk V., 1940 : K biologii štičího spermatu. Sborník ČAZ, 15 : 269-271.
Dyk V., 1942 : Další poznatky o biologii štičího spermatu. Sb. ČAZ, Praha, 17 : 59-62.
Dyk V., 1946 : Příspěvky k biologii střevle. Sborník ČAZ, 19 : 138-140.
Dyk V., 1956 : Naše ryby, SZN, Praha.
Dyk V., 1961 : Nemoci ryb. SZN, Praha.
Efimova. A.I., 1949 : Ščuka Ob-Irtyšskogo basseina. Izv. VNIORCH (28) : 114-175.
Emmens C.W., 1947 : The motility and viability of rabbit spermatozoa at different hydrogen ion concentrations. J.Physiol. 106 : 471-481.
Ergens R., 1964 : Výsledky výzkumu zdravotního stavu štiky (Esox lucius) v lipenské údolní nádrži. Zprávy ČSAV : 1-27.
Ergens E. et Lom J., 1970 : Původci parazitárních nemocí ryb. ČSAV, Praha.
Felix K.H. et al., 1956 : Protamines and nucleoprotamines. Progress Biophys. Chemistry 6 : 1-23.

Fostier A. et Jalabert B., 1982 : Physiological basis of practical means to induce ovulation in fish. 164-173, in C.J.J. Richter and J.H.Th. Goos (Comp.), Reproductive Physiology of Fish, PUDOC Wageningen.

Francis M.H. et Miller A.T., 1972 : Cytoplasmatic and mitochondrial NAD/NADH ratio in rat brain and liver; effect of hypoxia. Comp. Biochem. 44 : 829-835.

Frič A., 1859 : České ryby. Živa, Praha, 36-49.

Frost W.E. et Kipling C., 1967 : A study of reproduction, early life, weight-length relationship and growth of pike (Esox lucius L.) in Windermere. J. Anim. Ecol., 36 : 651-693.

Gatti J.L. et al., 1990 : Ionic regulation of the plasma membrane potential of rainbow trout spermatozoa : Role in the initiation of sperm motility. J.Cell Physiol. 143 : 546-554.

Georges D., 1964 : Evolution morphologique et histologique des organes adhésifs du brochet (Esox lucius). Trav. Lab. Hydrobiol. Piscicol. Univ. Grenoble, 1964 : (sin. pag.).

Ginsburg A.S., 1968 : Oplodotvorenie u ryb i problema polispermii. Moskva, Nauka, 1968 : 357.

Glogowski J. et al., 1996 : Activity of aspartate aminotransferase and acid phosphatase in cryopreserved trout sperm. Reproduction, Fertility and Development 8.

Goodrich E.S., 1909 : A treatise on zoology. Part IX. Vertebrata, Craniata, (1st. fasc. Cyclosomes and fishes). Ed. by Sir Ray Lancaster, London, 518 pp.

Gosh R.I., 1985 : Energetičeskij obmen polovych kletok i embryonoi u ryb. Naukova dumka. Kiev. 147 pp.

Gray J., 1920 : The relation of the animal cell to electrolytes. I. Physiological study of the egg of the trout. Journal of Physiology 53 : 308-319.

Gregory R.W., 1970 : Physical and chemical properties of walleye sperm and seminal plasma. Trans. Am. Fish. Soc. 99 : 518-525.

Grimm. M. P., 1983 : The regulation of the biomass of pike (Esox lucius L.) smaller then 41cm and the effectiveness of introducing 4 to 6cm individuals. In : Le Brochet, INRA Publ., Paris, 253-270.

Havelka J. et Tesarčík J., 1973 : Zdravotní ochrana v rybářství. MZV ČSR, Praha.

Healey A., 1956 : Pike (Esox lucius L.) in three Irish lakes. Sci. Proc. R. Dublin Soc., 27 (5) : 51-63.

Hessle C., 1934 : Märkningsförsök med Gädda. I. Ostergötlands Skärgard Aren 1928 och 1930. Drottningholm.

Hochman L., 1964 : Plodnost a stav vyživenosti štik z rybníků. Sborník VŠZ v Brně, ř.A.,3, 1964 : 557-567.

Hoffman R. et al., 1980 : Seasonal anatomical variations in the testes of European pike, Esox lucius L. J. Fish. Biol., 16 : 475-482.

Holčík J., 1964 : Ešte o "morskom", "jazernom" a "potočnom" pstruhovi. Čs. rybářství, 1964 : 182-183.

Holčík J., 1968 : Life history of the pike Esox lucius Linnaeus, 1758, in the Klíčava reservoir. Věst. čs. Společ. zool., 32 (2) : 166-180.

Holčík J. et Hensel K., 1972 : Ichtyologická příručka. Obzor Bratislava.

Holtz W. et al., 1977 : Beobachtungen zur Aktivierbarkeit von Forellen spermatozoen mit Fruchtwasser, Baehwasser und destillierten wasser. Zuchthyfiene 12 : 82-88.

Holtz W. et al., 1979 : Preservation of trout spermatozoa for varying periods. In : Advances in Aquanculture (FAO Tech. Conf. Aqua., Kyoto, Japan, 1976). (T.V.R. Pillay and W.A. Dill eds.). Farnham : Fishing New Books. pp. 141-143.

Horvát L. et Tamás G., 1976 : Ahárcsa (Silurus glanis L.) szaporitás és az viadelonevelése. Halászat. (2) : 12.

Hrabě S. et al., 1973 : Klíč našich ryb, obojživelníků a plazů. SPN, Praha, 352 pp.

Hwang P.C. et Idler D.R., 1969 : A study of major cations, osmotic pressure, and pH in seminal components of Atlantic salmon. J. Fish. Res. Board Can. 26 : 413-419.

Jaspers E., 1972 : Some spermatological aspects of channel catfish. Ph.D. Thesis. La. State Univ. 98 pp.

Jasper E.J. et al., 1976 : Spermatozoan morphology and altrastructure of channel catfish, Ictalurus punctatus. Trans. Am. Fish. Soc. (3) : 475-480.

Johal M.S., 1980 : Further notes on the growth of pike, Esox lucius, from Czechoslovakia (Pisces, Esocidae). Věst. čs. Společ. zool., 44 (1) : 105-115.

Kakuta I. et al., 1986 : Diurnal variation of urine properties of carp, Cyprinus carpio. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52 : 2079-2089.

Kakuta I. et al., 1991 : Physiological response of the fish, Cyprinus carpio, to formalin exposure: I. Effects of formalin on urine flow, heart rate, respiration. Comp. Biochem. Physiol. 100C:405-411.

Koldras M. et Moczarski M., 1983 : Properties of pike (Esox lucius L.) milt and its cryopreservation. Pol. Arch. Hydrobiol. 30 (1) : 69-78.

Korzynek W., 1956 : O tarle szczupaka glebinowego. Gospodarka Rybna, 3 : 23-24.
Kouřil J., Hamáčková J., 1975 : Plodnost štiky obecné (Esox lucius L.) z rybničního chovu. Živoč. výroba, 20 (11) : 841-849.
Kouřil J., Hamáčková J., 1977 : Roční pohlavní cyklus štiky obecné (Esox lucius) chované v rybnících. Práce VÚRH Vodňany.
Kruger J.C.W. et al., 1984 : Some chemical and physical charakteristics of the semen of Cyprinus carpio L. and Oreochromis mossambicus (Peters). J. Fish. Biol. 24 : 262-272.
Krupauer V. et Pekař Č., 1965 : Rozmnožování štiky obecné v lipenské údolní nádrži. Práce VÚRH Vodňany.
Kucherova F.N., 1972 : The cations level of Vimba vimba spermatozoa and seminal plasma. Vopr. Ichtiologii. 12 (4) 728-732.
Lahnsteiner F. et al., 1992 : Fine structural changes in spermatozoa of the grayling, Thymallus thymallus (Pisces: Teleostei), during routine cryopreservation. Aquaculture, 103 : 73-84.
Lahnsteiner F. et al., 1996 : Evaluation of semen fitness of the rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) for cryopreservation by physiological and biochemical parameters. In : Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. (ed. by F.W. Goetz & P. Thomas), p. 125. Austin, TX.
Legendre M. et al., 1996 : Spawning nad management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. Aquat. Living Resour. 9 : 59-80.
Lévai F. et Horvát L., 1980 : A csuka mesterséges szaporitásának továbfejleszetése. Halászat., 26, (1) : 4-5.
Lillelund K., 1967 : Versuche zur Erbrűtung der Eier vom Hecht, Esox lucius L., in Abhängigkeit von Temperatur und Licht. Arch. Fischereiwiss., 17 : 95-113.
Lindberg G.U., 1971 : Opredeliteľ i charakteristika semejstv ryb mirovoj fauny. Izd. Nauka, Leningrad, 470 pp.
Lindroth A., 1947 : Time of activity of freshwater fish spermatozoa in relation to temperature. Zool. Bidr. Upps., 25 : 165-168.
Linhart O., 1984a : Hodnocení spermatu štiky obecné a sumce velkého. Buletin VÚRH Vodňany. 2 : 22-33.
Linhart O., 1984b : Hodnocení spermatu u některých lososovitých ryb. Bul. VÚRH Vodňany, 20 (1) : 20-34.
Linhart O., 1985 : Použití oplozovacích roztoků při výtěru ryb. Práce VÚRH Vodňany. 17 : 3-13.
Linhart O. et al., 1986 : The motile spermatozoa of wels (Silurus glanis L.) and tench (Tinca tinca L.) after sperm collection without water activation. Práce VÚRH Vodňany. 15 : 28-41.
Linhart O. et al., 1991 : Fish sperm composition and biochemistry. Bull. Ins. Zool., Ac. Sinica, 16 : 285-311.
Linhart O. et Benešovský J., 1991 : Artificial insemination in Asp (Aspius aspius L.). Živočišná Výroba. 36 : 973-980.
Linhart O. et Kvasnička P., 1992 : Artificial insemination of tench (Tinca tinca L.). Aquacult. Fish. Manage., 23 : 125-130.
Linhart O. et al., 1993 : Cryopreservation of European catfish (Silurus glanis L.) spermatozoa. Aquaculture 115 : 347-359.
Linhart O., Billard, R. 1995. Biology of gametes and artificial reproduction in common tench, Tinca tinca (L.). A rewiew. Pol. Arch. Hydrobiol., 42, 37-56.
Linhart O. et al., 1995 : Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon and paddlefish. J.Fish.Biol. 47: 905.
Linhart O. et Billard R., 1995 : Biology of gametes and artificial reproductionin common tench (Tinca tinca L.) A review. Pol. Arch. Hydrobiol. 42 : 37-56.
Linhart O. et al., 1999 : Stripped and testicular sperm of fresh and seawater tilapia, (Oreochromis mossambicus). J. Fish. Biol. 55 : 1344-1358.
Linhart O. Et al., 2003 : Ionic and osmolality of paddlefish (Polyodon spathula, Acipenseriformes) seminal fluid with motility parameters. Aquaculture International, 11, 357-368 (IF 0,3).
Linhart O. et al., 2003 : Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (Tinca tinca L.). J.Appl. Ichtyol. 19 (2003) : 177-181.
Linhart O., 2004 : Učební texty pro JČU v ČB obor Rybářství, přednášky.
Lofts B. et Marshall A.J., 1957 : Cyclinal change of the testis lipids of a teleost fish, Esox lucius J. Microsc. Sci., 98 : 79-88.
Lowman F.G., 1953 : Electron microscope studies of silver salmon spermatozoa. Exp. Cell Res. 5 (2) : 335-360
Lucký Z., 1978 : Veterinární péče v chovech ryb. MZVŽ ČSR, Praha.

Lukin. A.V. et Štejnfeld A.L., 1949 : Plodovitost glavnějších promyslovych ryb srednej Volgi. Izv. Kazansk. fil. AN SSSR, (1) : 87-106.

Lusk S., 1984 : Ichtyologické poměry v oblasti horní zdrže v období před napuštěním a v prvních dvou letech po napuštění. Studie ČSAV, 3 : 120-129.

Lusk S. et Krčál J., 1982 : Štika obecná. Vyd. Naše vojsko : 5-54.

Maisse G.A. et al., 1988 : Characterisation de l'aptitude congélation du sperme de truite arc-enciel (salmo gairdneri) par des criteres physico-chimiques. Aquat. Living Resour. 1 : 45-51.

Marcel J. et al., 1983 : Experimental data on the management and artificial insemination of pike gametes. In : Billard et al. (1983), INRA Publ., Paris, 85-95.

Mattei X. et al., 1972 : Ultrastructure des spermatozoides aflegellés des Mormyres (Poissons téléostens). J. Microsc. (15) : 67-78.

Miller R.B. et Kennedy W. A., 1948 : Pike (Esox lucius) from four northern Canadian lakes. J. Fish. Res. Bd. Canada, 7 (4) : 176-189.

Mohri H., 1964 : Extraction of ATPase from sea urchin and fish sperm tails. Biol.Bull.Woods hole 127(2) : 381.

Montalembert G. et al., 1978 : Control of reproduction of northern pike. Am. Fish. Soc. Publ. 11 : 217-225.

Montalembert G. et al., 1980 : La spermiation chez le brochet. 1-Evolution de la quantité de sperme récolté au cours de la saison de reproduction. Bul. Fr. Pisc. 276 : 85-103.

Morisawa M. et Suzuki K., 1980 : Initiation of sperm motility in teleosts. Science 210 : 1145-1147.

Morisawa M. et al., 1983 : Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. J. Exp. Zool. 107 : 95-103.

Munkittrick K.R. et Moccia R.D., 1987 : Seasonal changes in the quality of rainbow trout (Salmo gairdneri) semen : effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constitutions. Aquaculture 64 : 147-156.

Munro W. R., 1957 : The pike of Loch Choin. Scot. Home Dept., 16 : 1-16.

Namba K. et al., 1987 : Annual changes in the osmolality and inorganic ion level ratios between urine and plasma in carp Cyprinus carpio. Nippon Suisan Gakkaishi 53 : 913-918.

Nikol'skij G.V., 1950 : Častnaja ichtiologija. Vysšaja škola, Moskva, 436 pp.

Nikol'skij G.V., 1963 : Reka Amur i jeje presnovodnyje ryby. Izd. MOIP, Moskva, 95 pp.

Nygren A., 1968 : Cytological studies in perch (Perca fluviatilis), pike (Esox lucius), pike-perch (Stizostedion lucioperca) and ruff (Acerina cernua). Hereditas, 67 : 259-267.

Oliva O., 1956 : K biologii štiky (Esox lucius L.), Věst. čs. Společ. zool., 20 (3) : 208-223.

Oliva O. et Vostradovský J., 1962 : Jak rychle roste ryba? Štika, Čs. rybářství, (4) : 48.

Oliva O., 1963 : Kruhoústí a ryby Čech. Habil. práce, Zool. ústav UK, Praha, 584.

Pecha O., 1986 : Nové poznatky v chovu štiky obecné (Esox lucius). In.: Odchov plůdku dravých druhů ryb. Vodňany, pp. 34-39.

Perchec G. et al., 1995 : Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. Aquaculture. 129 : 135-136.

Piironen J. et Hyvarinen H., 1983 : Composition of the milt some teleost fishes. J.Fish.Biol. 22 : 351-361.

Piironen J., 1993 : Cryopreservation of fish eggs and sperm. Nordiske Seminar- og Arbejdsrapporter 1993:589. Nordic Council of Ministers, Copenhagen.

Ploudy M.G. et Billard R., 1983 : The chemical composition fluids of the gametes in the common carp (Cyprinus carpio). In : Reproductive physiology of fish. (Goos, H. and C. Richter eds.). Pudoc, Wadeningen, The Netherlands. 134 pp.

Popova O.A., 1960 : Někotoryje osobjennosti ekologiji ščuki a okunja v del'te Volgi. Voprosy Icht. 1960, (15) : 55-70.

Poupard G.P. et al., 1998 : Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. Aquaculture. 160 : 317-328.

Poupě J., 1974 : Note of growth of the pike, Esox lucius L., in the central Bohemian inundation area of the river Labe. Věst. čs. Spol. zool., 38 (4) : 279-284.

Poupě J., 1980 : Růst velké štiky. Rybářství, 1980 (12) : 271.

Pouvreau M., 1980 : Etude du cycle sexuel femelle du brochet (Esox lucius L.) et de quelques problémes liés á l'induction de la ponte. Dipl. Etudes Approf. Univ. Poitiers, 29 pp.

Pouvreau M. et al., 1983 : Efficiency of ivulation induced by gonadotropic treatment in a heterogenous population of northern pike (Esox lucius) : relative to the oocyte stage, and

comparison with the results of spontaneous ovulations. In : Billard et al. (1983), INRA Publ., Paris, 85-95.

Ráb P., 1983 : Chromosomální evoluce štik a blatňáků. Živa, 1983 (3) : 104-106.

Ráb P. et Mayr B., 1987 : Karyotype study of eight species of European percid fishes (Pisces, Percidae). Caryologia, 40 : 307-318.

Rawson D. S., 1932 : The pike of Waskesin Lake, Saskatchewan, a preliminary report. Trans. Am. Fish. Soc., 62 : 323-330.

Redondo C. et al., 1991 : In vitro maturation of the potential for movement of carp spermatozoa. Mol. Reprod.

Reitman S. et Frankel S., 1957 : A colorimetric method for the determination of serum glutamic-oxaloacetic transaminase and serum glutamic-pyruvic transaminase. American Journal of Clinical Pathology, 28 : 56-58.

Rodina M. et al., 2002 : Test of modification of KUROKURA solution as immobilizing medium for spermatozoa of tench. In:Proc. Intl. Scientific Conference XX.Genetic Days.T. Urban.(Ed.).Brno, Menedelian University of Agriculture and Forestry, pp.326-328.

Rőtheli A. et al., 1950 : Elektronenoptische Untersuchungen der Strukturveränderung agglutinierter Fishsperminen. Exp. Cell Res. 1 (1) : 115-126.

Sanchez-Rodriguez M. et al., 1978 : The spermiation period in the rainbow trout (Salmo gairdneri). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes and fluid. Ann.Biol. Anim. Biochem. Biophys. 18 : 943-948.

Scott A.P. et Baynes S.M., 1980 : A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. Journal of Fish Biology 17 : 707-739.

Sedlár J., 1971 : Prípad velmi pomalého rastu šťuky obyčajnej (Esox lucius L.). Polnohospodárstvo, 17 (3) : 232-235.

Schäperclaus W., 1961 : Lehrbuch der Teichwirtschaft. Berlin-Hamburg, 582 pp.

Scheuring L., 1925 : Biologische und physiologische Untersuchungen an Forellensperma. Arch. Hydrobiol. Suppl. 4 : 181-318.

Schlenk W. et Kahmann K., 1938 : Die chemische Zusammensetzung des Spermaliquors und ihre physiologische Bedeutung. Biochem. Z. 295 (5/6) : 283-301.

Schofield C.L., 1976 : Acid precipitation: effects on fish. Ambio 5 : 228-230.

Smíšek J., 1966 : Odchov štičího plůdku. Živoč. výroba, 11 : 703-714.

Smíšek J., 1967 : Průzkum možnosti opakovaného výtěru generačních štik. Bul. VÚRH Vodňany, (1) : 1-5.

Snow E., 1974 : Effects of stocking northern pike in Murphy Flovage. Wisconsin Tech. Bull., 79 : 1-19.

Souchon Y., 1983 : La reproduction du brochet (Esox lucius L., 1758) dans le milieu naturel. In : Le Brochet. INRA, Paris, 21-37.

Stein H., 1977 : Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleosts. Ann.Biol.Anim.Biochem.Biophys.

Stoss J., 1983 : Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In : Fish Physiology, Vol. IX, Reproduction, Part B, Behaviour and Fertility Control (ed. by W.S. Hoar, D.J. Randall & E.M. Donaldson), pp. 305-330. Academic Press, London.

Suquet M. et al., 1998 : The ageing phenomenon of turbot spermatozoa: effects on morphology, motility and concentration, intracellular ATP content, fertilization, and storage capacity. J. Fish. Biol. 52 : 31-41.

Swift D.R., 1965 : Effect of temperature on mortality and rate of development of the eggs of the pike (Esox lucius L.) and the perch (Perca fluviatilis L.). Nature, London, No. 206 : 528.

Štědroňský E., 1953 : Potrava plůdku štiky obecné (Esox lucius L.) po ztrátě žloutkového váčku. Sb. ČSAZV, 26 (1-2) : 71-78.

Tandon K.K. et Oliva O., 1978 : Further notes on the growth of pike, Esox lucius from Czechoslovakia (Osteichthyes: Clupeiformes). Věst. čs. Společ. zool., 42 (1) : 69-76.

Tanimoto S. et Morisawa M., 1988 : Roles of potassium and calcium channels in the initiation of sperm motility in rainbow trout. Dev. Growth Differ. 30 : 117-124.

Tarnavskij N.P., 1967 : Biologia ščuki Verchnego Dnepra. Rybnoje chozjajstvo Ukrainy, 3 : 61-69.

Terner C., 1962 : Oxidative and biosynthetic reactions in spermatozoa. In : Spermatozoan motility. (D.W. Bishop ed.). Publ. Am. Assoc. Adv. Sci. 72. pp. 89-98.

Tibbs J., 1959 : The adenosine triphosphatase activity of perch sperm flagella. Biochemica et Biophysica Acta 33 : 220-226.

Tibbs J., 1962 : Adenosine-triphosphatase and acetylcholin esterase in relation to sperm motility. In : Spermatozoan motility. (D.W. Bishop ed.). Am. Assoc. Adv. Sci. Publ. 72. pp. 233-250.

Toner E.D. et Lawler H.G., 1969 : Synopsis of biological data on the pike (Esox lucius). FAO Fisheries Synopsis, 30 (sin pag.).

Vladykov V., 1931 : Les poissons de la Russie Sous-Carpathique (Tchecoslovaquie). Mém. Soc. Zool. France, 29 (4) : 217-374.

Vostradovský J., 1961 : K biologii a růstu kapra obecného, okouna říčního a jelce proudníka v ÚN Lipno. Živoč. výroba, 34 (4) : 287-294.

Vostradovský J., 1965 : Ichthyofauna údolní nádrže Jesenice v prvých třech letech po napuštění. Zprávy muzeí západočes. kraje, Příroda, 1965 (3-4) : 1-15.

Vostradovský J., 1968 : Příspěvek k poznání formování ichtyofauny ÚN Lipno (1958-1965). Zpravodaj CHKO Šumava, 7 : 4-29.

Vostradovský J., 1969 : Značkování, migrace a růst značkovaných štik v údolní nádrži Lipno. Buletin VÚRH Vodňany, (3) : 9-18.

Vostradovský J., 1969 : Úmrtnost, přežívání, biomasa a abundance štiky obecné (Esox lucius L.) v údolní nádrži Lipno. Živoč. výroba, 14 : 799-812.

Vostradovský J., 1969 : Vývoj úlovků a poměr pohlaví štiky obecné (Esox lucius L.) v údolní nádrži Lipno. Bul. VÚRH Vodňany, (4) : 7-17.

Vostradovský J., 1971 : Potrava štiky obecné (Esox lucius L.) v údolní nádrži Lipno. Práce VÚRH Vodňany, (9) : 159-189.

Vostradovský J., 1975 : Výzkum účinnosti obsádky dravých ryb na populace ostatních druhů (Želivka, Hubenov). Závěr. zpráva VÚRH Vodňany (nepubl.).

Vostradovský J., 1977 : The age and growth of pike (Esox lucius L.) in the artificial reservoir Lipno. Práce VÚRH Vodňany, 1977 (10) : 21-46.

Vostradovský J., 1981 : The biology (size, growth, food) of pike (Esox lucius L.) in three Czech reservoirs. Verh. Int. Ver. Limnol., 21 : 1264-1269.

Wajdowicz Z., 1965 : Szczupak w zbiorniku Goczalkowieckim. Acta Hydrobiol., 7 (2-3) : 179-195.

Wurz A., 1945 : Développement, biologie et nutrition des jeunes alevins de brochet (Esox lucius L.) Bull. Fr. Piscicol., 135 : 57-69.

Yamazaki F. et Donaldson E.M., 1969 : Involvement of gonadotropin and steroid hormones in the spermiation of the goldfish (Carassius auratus). Gen.Comp. Endocrinol. 12 : 491-497.

Yano T. et Ishio S., 1978a : Steroid hormone metabolites in fish urine: I. Identification of androsterone, etiocholanolone, and dehydro-epiandrosterone isolated from the urine of carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44 : 1023-1028.

Yano T. et Ishio S., 1978b : Steroid hormone metabolites in fish urine: II. Identification of pregnanediol, pregnanetriol and androstenediol isolated from the urine of carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44 : 1399-1404.

Yano T. et Ishio S., 1978c : Steroid hormone metabolites in fish urine: III. Corticosteroid metabolites in carp urine. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44 : 1405-1410.

Zajcev A. V., 1955 : Godičnyj cikl semjenikov ščuki. DAN SSSR, t.101, 1 : 185-187.

Zajcev A. V., 1956 : Godičnyj cikl jajčnikov ščuki. DAN SSSR, t.106, 6 : 1115-1117.

Zhukinskij V.N. et Gosh R.I., 1974 : The embryo vitality and its dependence on an intensive energy change in eggs and spermatozoa of Abramis brama and Rutilus rutilus Heckeli. Raznokachestvennost rannego ontogeneza u ryb, Nauk. Dumka, Kiev. pp.7-64.

JIHOČESKÉ UNIVERZITY V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH AKADEMICKÁ KNIHOVNA