



Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

# Ověřená technologie hromadné indukce triploidie u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) v provozních podmínkách

Miloš Havelka, Michal Kříž, Martin Flajšhans



evropský  
sociální  
fond v ČR



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ





Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

# **Ověřená technologie hromadné indukce triploidie u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) v provozních podmínkách**

---

Miloš Havelka, Michal Kříž, Martin Flajšhans

**Vodňany**

**Vydání a textová příprava publikace byly uskutečněny za finanční podpory projektu:**

***Posílení excelence vědeckých týmů na FROV JU***  
(CZ.1.07/2.3.00/20.0024)



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

**Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:**

***Ověření technologie hromadné indukce triploidie u sívena amerického v provozních podmínkách***  
(OP Rybářství CZ.1.25/3.4.00/11.00374)

***Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz – CENAKVA***  
(CZ.1.05/2.1.00/01.0024)

***Reprodukce a genetika vybraných modelových druhů kostnatých a chrupavčitých ryb***  
(GA JU 046/2010/Z)

***Rozvoj postdoktorandských pozic na JU***  
(RPP JU CZ.1.07/2.3.00/30.0049)

***a za technické podpory***  
***Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r.o.***



č. 139

ISBN 978-80-87437-87-2

## **OBSAH**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. ÚVOD DO PROBLÉMU</b>   | <b>6</b>  |
| <b>2. CÍL</b>  | <b>8</b>  |
| <b>3. MÍSTO, KDE SE TECHNOLOGIE OVĚŘOVALA</b>  | <b>8</b>  |
| <b>4. POPIS TECHNOLOGIE A VÝSLEDKY</b>   | <b>9</b>  |
| 4.1. Příprava generačních ryb, vlastní výtěr, aktivace a oplození jiker              | 9         |
| 4.2. Technologické sestavy pro indukci triploidie                                    | 9         |
| 4.3. Indukce triploidie teplým šokem   | 11        |
| 4.4. Indukce triploidie šokem hydrostatickým tlakem                                  | 12        |
| 4.5. Opatření během inkubace jiker a odchovu plůdku                                  | 13        |
| 4.6. Ověření triploidie rozplavaného plůdku  | 14        |
| 4.7. Srovnání úspěšnosti triploidizace šokem hydrostatickým tlakem<br>a teplým šokem | 15        |
| <b>5. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE VE VÝROBĚ</b>  | <b>15</b> |
| <b>6. EKONOMICKÝ PŘÍNOS TECHNOLOGIE</b>  | <b>16</b> |
| <b>7. SEZNAM LITERATURY</b>  | <b>16</b> |

## 1. ÚVOD DO PROBLÉMU

Siven americký (*Salvelinus fontinalis*) je v Evropě nepůvodním avšak hojně rozšířeným druhem. Koncem 19. století byl dovezen ze své domoviny na východě Severní Ameriky do Německa, odkud byl následně introdukovan i na naše území. Původně dovezené populace sivena amerického se osvědčily pro vysazování do potoků a regulovaných toků, a to především s ohledem na fakt, že siven americký nevyžaduje přítomnost velkého množství úkrytů jako je tomu u pstruha potočního (*Salmo trutta m. fario*). V roce 1964 byla na území tehdejšího Československa dovezena prošlechtěná forma sivena amerického, která byla vhodná i pro chov v podmínkách intenzivní akvakultury. Tím byl položen základ dnešních chovů v podmínkách intenzivní akvakultury. V současné době produkce sivena amerického v České republice stoupá (v roce 2009 se vyprodukovalo 145 t, zatímco v roce 2012 již 363 t). Obdobně vzestupný trend produkce lze zaznamenat v celé Evropě (databáze MZe <http://www.eagri.cz> a FAO <http://www.fao.org/fishery/en>). Také na sportovních revírech je siven americký vyhledávanou rybou. V roce 2009 bylo na revírech Českého rybářského svazu uloveno celkem 5,9 t sivena, zatímco v roce 2012 již necelých 8 t (<http://www.rybsvaz.cz>). Ačkoliv byla průměrná kusová hmotnost ulovených ryb 350 g, dochází mezi sportovními rybáři čím dál více k nárůstu poptávky po trofejních kusech.

I přes to, že je technologický postup chovu sivena amerického v našich podmínkách dobře zvládnutý, nadále se zde setkáváme s některými nedořešenými problémy. Mezi ně bezesporu patří faktory spojené s pohlavním dospíváním, jako jsou výrazná agresivita chovaných jedinců, hmotnostní úbytek, zhoršená konverze krmiva, snížení kvality a výtěžnosti masa, zhoršení odolnosti vůči chorobám a parazitům atd. (Tiwary a kol., 2004; Kiessling a kol., 2006; Maxime, 2008) V podmínkách akvakulturních chovů dospívají jedinci sivena amerického již v průběhu druhého roku života, při hmotnosti 200–300 gramů. Jejich chov do větších tržních velikostí ve zhuštěných obsádkách je poté značně komplikován výše zmíněnými negativními faktory, kde především vzájemné napadání způsobující vnější poranění může mít za následek výrazně zvýšenou mortalitu a následné zhoršení ekonomiky celého chovu. Je tedy zřejmé, že oddálení či úplné zamezení pohlavního dospívání chovaných jedinců výrazně přispívá ke zlepšení rentability chovu sivena amerického do větších tržních velikostí.

Jednou z možností, jak eliminovat negativní dopady pohlavního dospívání chovaných ryb, je produkce sterilních triploidních jedinců (Loopstra a Hansen, 2008). Tito jedinci nesou v jádře svých buněk tři sady chromozómů, a tudíž je u nich zamezeno párování homologních chromozómů při tvorbě gamet

## OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE HROMADNÉ INDUKCE TRIPLOIDIE U SIVENA AMERICKÉHO (*SALVELINUS FONTINALIS*) V PROVOZNÍCH PODMÍNKÁCH

v průběhu meiotického dělení (Carrasco a kol., 1998). U samic tak dochází pouze k tvorbě rudimentálních ovaríí, zatímco u samců může docházet k částečnému vývoji testes a k tvorbě malého množství spermatu obsahujícího aneuploidní spermie (Benfey, 1999). Z pohledu chovu sivena amerického je podstatné, že u triploidních jedinců dochází k výraznému potlačení teritoriálního chování a ke snížení mortality vlivem vzájemného napadání společně chovaných jedinců, obdobně jako je tomu u monosexních obsádek (Piferrer a kol., 2009). Mezi další nezanedbatelné výhody chovu triploidních jedinců patří jejich až o 20% vyšší růstová schopnost, která je dána absencí energetických ztrát při tvorbě gonád v porovnání s diploidními vrstevníky (Boulanger, 1991). Nicméně tento vyšší růstový potenciál triploidů může být částečně kompenzován anabolickým efektem pohlavních steroidů, díky čemuž mohou pohlavně dospělí diploidi po proběhnutí reprodukce kompenzovat svůj růst (Benfey, 1999). Dále je nutné zohlednit lepší organoleptickou kvalitu masa triploidů v porovnání s diploidy, a to v případě že jsou diploidní jedinci zpracováváni a prodáváni v předvýtěrovém období. Právě v tomto období totiž využijí diploidi velkou část svalového tuku a glykogenu k tvorbě a růstu gonád a také jako mobilizovatelný zdroj energie (Werner a kol., 2008).

Pro produkci triploidních jedinců sivena amerického se v provozních podmínkách osvědčilo především použití tzv. **polyplodizačních šoků**, což je nejčastěji fyzikální zásah do raného vývoje oplozené jikry. Tento zásah vede k depolymerizaci tubulinu dělicího vřeténka během druhé fáze meiotického dělení, v jehož důsledku dojde k přifúzování sekundárního pólového tělíska (Pandian a Koteeswaran, 1998) a výsledný jedinec pak nese tři sady chromozómů. V porovnání se pstruhem duhovým (*Oncorhynchus mykiss*) nebyly u sivena amerického doposud tak detailně popsány možné postupy indukce triploidie, nicméně v principu se jedná o stejné metody s drobnými odchylkami, způsobenými druhovými rozdílnostmi průběhu procesu oplození v závislosti na teplotě prostředí.

V provozním měřítku se k indukci triploidie u sivena amerického osvědčily dva metodické přístupy. V prvním případě se jedná o **aplikaci teplého šoku**, kdy jsou jikry za přesně definovaných podmínek a po určitý čas přeneseny do lázně s vodou o teplotě o 15 až 20 °C, vyšší než je fyziologicky optimální inkubační teplota, a zde inkubovány po dobu dalších patnáct až dvaceti minut (Dubé a kol., 1991; Galbreath a Samples, 2000). Druhým postupem je **šok hydrostatickým tlakem**. Využívá se speciálních tlakových jednotek, kde jsou jikry s vodou vystaveny působení hydrostatického tlaku od 50 MPa (Boulanger, 1991) do 65 MPa (Deeley a Benfey, 1995). Indukce triploidie **hydrostatickým tlakem** poskytuje ve srovnání s indukci pomocí teplého šoku u lososovitých zpravidla vyšší procento triploidů, nižší procento deformit plůdku a také výrazně

vyšší přežití oplozených jiker i váčkového plůdku (Lincoln, 1989; Haffray a kol., 2007). I když nebyly doposud u sivena amerického publikovány detailnější výsledky týkající se tohoto problému, lze předpokládat, že indukce triploidie šokem hydrostatickým tlakem poskytne lepší provozní výsledky v porovnání s aplikací teplého šoku.

## 2. CÍL

Přestože má chov triploidních jedinců sivena amerického řadu výhod a jejich produkce není v dnešní době příliš technologicky náročná, nepodařilo se dosud tento postup aplikovat v provozních podmínkách českého rybářství.

Cílem technologie bylo ověření hromadné indukce triploidie u sivena amerického v provozních podmínkách rybí líhně na pstruhařství. Dílčími cíli byly: 1) optimalizace výnosu triploidního váčkového plůdku v měřítku potřebném pro produkci dostatečného množství jedinců pro produkční chovy a pro vysazování do volných vod, 2) dosažení maximálního procenta indukovaných triploidů v potomstvu ve stadiu váčkového plůdku a 3) maximalizace procenta oplozenosti jiker a líhivosti plůdku vůči kontrole.

Inovativnost testované technologie spočívá v prvním otestování tlakové jednotky k hromadné indukci triploidie šokem hydrostatickým tlakem u sivena amerického na pstruhařství v ČR. Dále pak v paralelním testování tohoto postupu s umělou indukci triploidie teplotním šokem, jehož výsledek slouží k porovnání účinnosti obou typů fyzikálního šoku vůči kontrole. Jedná se o inovaci pro celé odvětví chovu lososovitých ryb v České republice, která doposud nebyla rybářským podnikem v provozu využita.

Účelem aplikace technologie v praxi má být produkce triploidních sivenů amerických do vyšší tržní hmotnosti, s vyšší užitkovostí a s nižší úrovní agresivity za stejných chovatelských podmínek (délka odchovu, krmný režim, apod.) jako při běžné produkci.

## 3. MÍSTO, KDE SE TECHNOLOGIE OVĚŘOVALA

Proces ověření technologie probíhal v rámci realizace pilotního projektu CZ.1.25/3.4.00/11.00374 „Ověření technologie hromadné indukce triploidie u sivena amerického v provozních podmínkách“, Operační program Rybářství v roce 2012, ve výrobních podmínkách firmy Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r.o.



## 4. POPIS TECHNOLOGIE A VÝSLEDKY

### 4.1. Příprava generačních ryb, vlastní výtěr, aktivace a oplození jiker

V předvýtěrovém období byly ryby sloveny a umístěny do manipulačních nádrží v líhni, kde byla pravidelně kontrolována jejich připravenost k výtěru. V době, kdy u samic (jikernaček) docházelo k samovolnému uvolňování jiker při mírném tlaku na břicho, bylo přistoupeno k umělému výtěru. Hormonální stimulace generačních ryb se neprováděla.

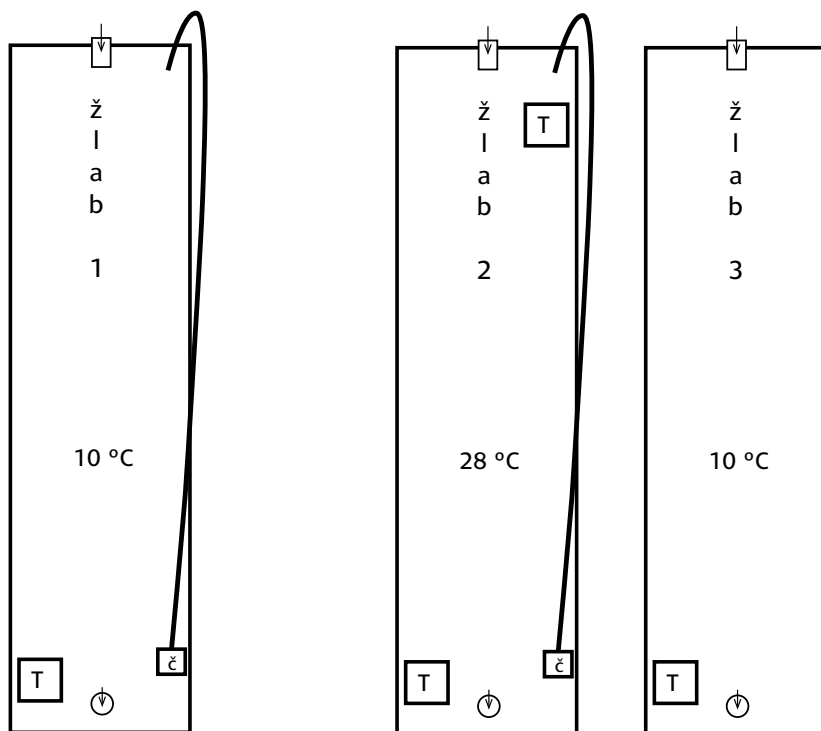
Jikry každé samice byly vytírány odděleně do suché misky, stejně tak sperma každého samce bylo odebíráno do suchých připravených plastových kádinek. Při umělém výtěru byly získány gamety od celkem 135 generačních ryb ve věku 3 a 4 let, o průměrné hmotnosti 1 000 g (85 samců a 50 samic). Oplození bylo provedeno klasickou německou metodou. Směs jiker od různých samic byla opložena heterospermicky (směsí spermatu od více samců) v dávce 3 ml heterospermatu na každých 100 ml jiker, s aktivací vodou v množství dvojnásobném vůči objemu jiker. Aktivace byla provedena okamžitě po osemenění, vodou z líhne temperovanou na 10 °C. Voda k aktivaci gamet a inkubaci jiker do začátku šoku byla temperována 2 kW závěsnými termostaty (Julabo GmbH, Německo) v odchovných žlabech a cirkulována čerpadly o výkonu 700 l.h<sup>-1</sup> s hadicovým rozvodem vody. Čas aktivace gamet byl zaznamenán jako čas 0 min. Misky s aktivovanými gametami byly uchovány v 10 °C. Po +1,5 min od aktivace gamet byly jikry propláchnuty vodou temperovanou na 10 °C, aby byly zbaveny veškerých zbytků spermatu a odstraněna jejich nepatrná lepkavost. Jikry, které byly použity pro indukci triploidie teplým šokem a jikry použité jako kontrola, byly umístěny na inkubační aparáty (vločky) do žlabu s vodou o teplotě 10 °C. Jikry pro indukci triploidie šokem hydrostatickým tlakem byly ponechány v miskách a byly pozvolna proplachovány vodou o teplotě 10 °C až do doby jejich přenesení do tlakové nádoby.

### 4.2. Technologické sestavy pro indukci triploidie

Technologické sestavy pro inkubaci oplozených jiker do začátku šoku a pro hromadnou indukci triploidie teplým šokem byly zkompletovány před zahájením umělého výtěru (obr. 1). Tyto sestavy se skládaly ze tří odkulovacích žlabů, do kterých byly umístěny inkubační vločky na jikry. Dva odkulovací žlaby, které sloužily k temperování vody na 10 °C, byly osazeny vždy po jednom 2 kW závěsným termostatem (Julabo GmbH, Německo) a jeden z těchto žlabů byl osazen čerpadlem o výkonu 700 l.h<sup>-1</sup> s hadicovým rozvodem pro zajištění cirkulace vody ve žlabu. Odkulovací žlab použitý pro indukci triploidie teplým

šokem byl osazen dvěma 2 kW závěsnými termostaty (Julabo GmbH, Německo) pro zajištění stálosti požadované teploty a jedním čerpadlem jako v předchozím případě.

Technologická sestava pro indukci triploidie tlakovým šokem byla sestavena firmou SZDT, s.r.o. ve spolupráci s Pstruhařstvem ČRS Kaplice, spol. s r.o. a Fakultou rybářství a ochrany vod JU. Tato sestava je chráněna užitným vzorem Úřadu průmyslového vlastnictví ČR, č. 23378 (Flajšhans a kol., 2012). Celá tlaková jednotka se skládá z vysokotlakého kompresoru s pojistným ventilem, kterým je stlačený atmosférický vzduch dodáván přes vysokotlaké hadice a redukční ventil do násobiče. Ten následně umožňuje vytvořit požadovaný tlak (> 500 atm; > 50 MPa) v tlakové nádobě s jiskrami a vodou. Celé zařízení je po jeho rozložení možné převážet osobním automobilem.

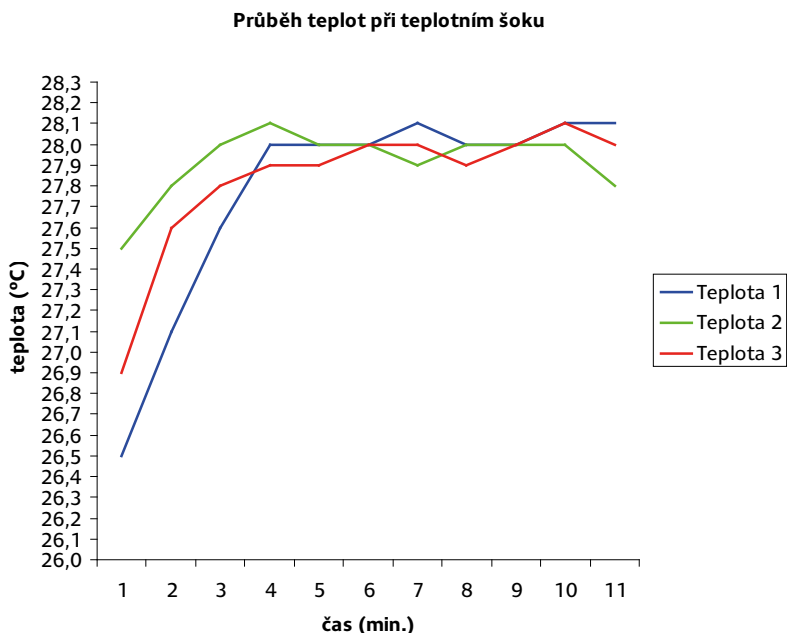


**Obr. 1.** Schéma uspořádání inkubačních žlabů při ověření technologie hromadné indukce triploidie na Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r.o. T = termostat; Č = čerpadlo.

### 4.3. Indukce triploidie teplým šokem

K indukci triploidie teplým šokem bylo použito metodického postupu oplození, aktivace gamet a počáteční inkubace oplozených jiker popsaných v části 4.1. V čase +15 min po aktivaci byly celé vložky s jikrami přeneseny do inkubačního žlabu vyhřátého na 28 °C na dobu 10 min. Nad žlab byl umístěn 3kanálový registrační digitální teploměr, přičemž jedno jeho čidlo bylo umístěno do vodního sloupce ve žlabu a dvě čidla byla vnořena do inkubačních vložek mezi jikry. Průběh teplot je znázorněn na obr. 2.

V čase +25 min po aktivaci byly celé vložky s jikrami vyjmuty z teplé lázně a přeneseny do inkubačního žlabu s vodou o teplotě 10 °C, postupně adaptovaného na teplotu přítokové vody. Zde byly jikry inkubovány do vykulení plůdku. Zjišťována byla a) mortalita jiker do stadia očních bodů; b) oplozenost ve stadiu očních bodů (%); c) počet vykuleného plůdku a líhivost (%); d) procento triploidního plůdku ve vzorku (tab. 1).



**Obr. 2.** Rozložení a dynamika teplot v průběhu 10 min teplého šoku.

modrá – teplota ve vložce s jikrami

zelená – teplota u dna inkubačního žlabu

červená – teplota ve vložce s jikrami

Průměrná oplozenost jiker po teplém šoku byla 83,2% a oplozenost kontroly byla 89,1%, tudíž průměrná oplozenost triploidů dosahovala 93,4% kontroly. Průměrná líhivost triploidního plůdku byla zjištěna na úrovni 80,3%, průměrná líhivost kontroly byla 88,4%, a průměrná líhivost triploidů tedy dosahovala 90% kontroly, což lze v praktických podmínkách považovat za uspokojivý výsledek.

Z celkem 9 500 jiker podrobených teplému šoku bylo získáno 7 630 ks plůdku sivena amerického k dalšímu odchovu, s 80% úspěšností triploidizace, tedy 6 104 ks triploidů (tj. 64% z původního počtu jiker).

#### 4.4. Indukce triploidie šokem hydrostatickým tlakem

Bylo použito metodického postupu oplození, aktivace gamet a počáteční inkubace oplozených jiker popsanych v části 4.1. V čase +17 min po aktivaci gamet byly jikry převedeny do tlakové nádoby s vodou o teplotě 10 °C. Tlaková komora byla poté dolita vodou o téže teplotě.

V čase +20 min po aktivaci byl v tlakové komoře vyvolán hydrostatický tlak 646 atm (65,5 MPa). Cílové intenzity tlaku bylo dosaženo během 20 s. Expoziční doba byla 5 min. V čase +25 min po aktivaci byl šok hydrostatickým tlakem ukončen. Přebytný tlak byl vypuštěn během 5 s. Jikry byly vypuštěny do nádoby s vodou a převedeny do vložek na inkubačních žlabech s vodou o teplotě 10 °C, postupně adaptovanou na teplotu přítokové vody. Zde byly jikry inkubovány do vykulení plůdku. Zjišťována byla a) mortalita jiker do stadia očních bodů; b) oplozenost ve stadiu očních bodů (%); c) počet vykuleného plůdku a líhivost (%); d) procento triploidního plůdku ve vzorku (tab. 1).

**Tab. 1.** Počet oplozených jiker, množství spermatu použitého k oplození, mortalita jiker do stadia očních bodů, oplozenost ve stadiu očních bodů, počet vykuleného plůdku, líhivost a procento triploidního plůdku ve vzorku. Vyjádřeno pro kontrolu a pro jednotlivé fyzikální šoky použité k indukci triploidie.

|                 | Oplozeno jiker (ks) | Sperma (ml) | Ztráty do oč. b. celkem | Oplozenost (%) | Vykuleno celkem | Líhivost (%) | Vzorkováno (ks) | Triploidi (%) |
|-----------------|---------------------|-------------|-------------------------|----------------|-----------------|--------------|-----------------|---------------|
| <b>Tlak</b>     | <b>29 100</b>       | 40          | 4 690                   | <b>83,9</b>    | 24 260          | <b>83,37</b> | 30              | <b>100</b>    |
| <b>Teplota</b>  | <b>9 500</b>        | 15          | 1 592                   | <b>83,2</b>    | 7 630           | <b>80,32</b> | 30              | <b>80</b>     |
| <b>Kontrola</b> | <b>8 500</b>        | 15          | 930                     | <b>89,1</b>    | 7 520           | <b>88,47</b> | 30              | <b>0</b>      |

Průměrná oplozenost jiker po tlakovém šoku byla 83,9% a oplozenost kontroly byla 89,1%, tj. průměrná oplozenost triploidů dosahovala 94,1%

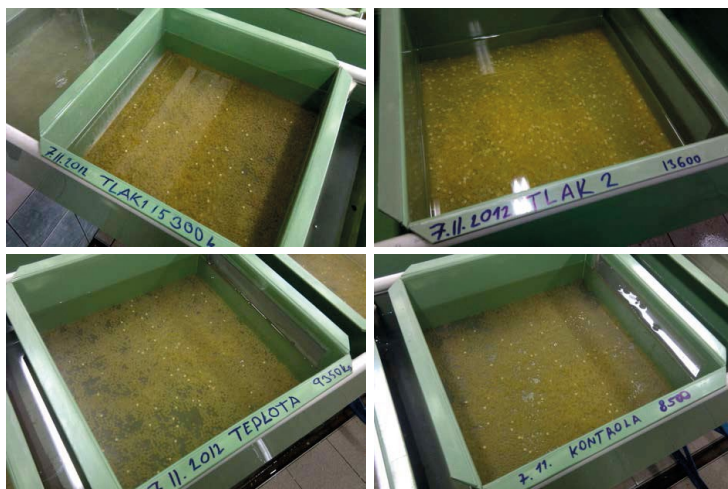
## OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE HROMADNÉ INDUKCE TRIPLOIDIE U SIVENA AMERICKÉHO (*SALVELINUS FONTINALIS*) V PROVOZNÍCH PODMÍNKÁCH

kontroly. Průměrná líhivost triploidního plůdku byla zjištěna na úrovni 83,4 %, průměrná líhivost kontroly byla 88,4%, tj. průměrná líhivost triploidů dosahovala 94,2% kontroly, což lze v praktických podmínkách považovat za vynikající výsledek.

Z celkem 29 100 jiker podrobených tlakovému šoku bylo získáno 24 260 ks plůdku sivena amerického k dalšímu odchovu, se 100% úspěšností triploidizace.

### 4.5. Opatření během inkubace jiker a odchovu plůdku

Triploidizace oběma typy šoků zvýšila mortalitu jiker a plůdku vůči kontrole (obr. 3). Pro úspěšnou inkubaci triploidizovaných jiker je nezbytně nutné umisťovat inkubované jikry do aparátů maximálně ve dvou vrstvách (optimálně však v jedné vrstvě) tak, aby bylo umožněno bezproblémové odebrání mrtvých jiker. Samotnému odebrání odumřelých jiker a odumřelého plůdku z inkubačních aparátů je nutné věnovat zvýšenou pozornost. Je také možné aplikovat protiplísňové koupele, nicméně jejich použití nebylo ověřeno v rámci této technologie.



**Obr. 3.** Oplozené jikry sivena amerického po obou typech šoku a po vrácení do inkubačních žlabů. Bílé jikry jsou odumřelé. Foto M. Havelka

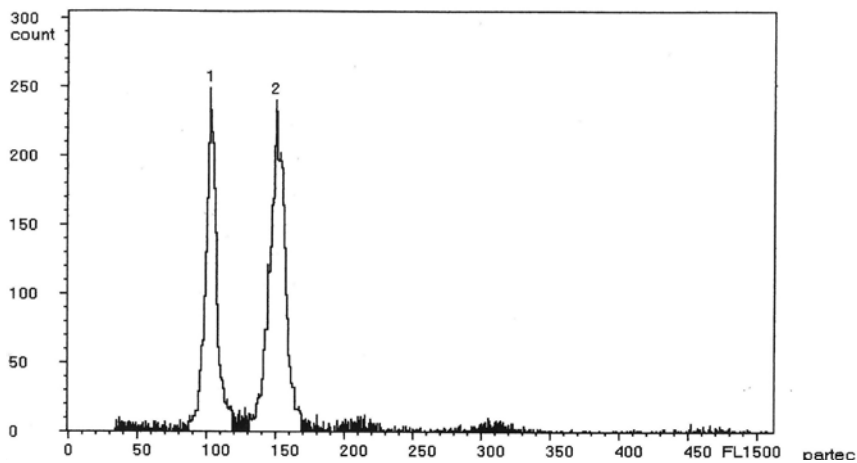
#### 4.6. Ověření triploidie rozplavaného plůdku

Ověření triploidní konstituce rozplavaného plůdku ve stáří 200 d° po vykulení bylo provedeno v Laboratoři molekulární, buněčné a kvantitativní genetiky FROV JU stanovením relativního obsahu DNA průtokovou cytometrií, tj. metodou založenou na permeabilizaci buněčné membrány, obarvení jaderné DNA barvivem DNA-specifickým (4',6-diamidino-2-fenylindolem, DAPI) a na měření fluorescence emitované komplexem obarvené DNA. Výsledky byly zobrazeny formou histogramu intenzity fluorescence v jádrech analyzované suspenze (obr. 4). Triploidní jedinci mají tři sady chromozómů a tedy 1,5x více DNA než diploidní jedinci. U sivena amerického bylo zjištěno, že teplý šok indukoval 80 % triploidů ze sledovaného vzorku jedinců ve stadiu rozplavaného plůdku a šok hydrostatickým tlakem indukoval triploidii u všech jedinců ze sledovaného vzorku, tj. 100 % triploidů.

File: 17860  
04.01.80 13:27:19  
Total Count: 6896

| Peak | Index | Mode | Mean   | Area | Area%CV%   |
|------|-------|------|--------|------|------------|
| 1    | 1.000 | 102  | 103.24 | 2511 | 36.41 3.15 |
| 2    | 1.462 | 150  | 150.92 | 3298 | 47.82 3.15 |

30451 cells/ml



**Obr. 4.** Výsledky analýzy relativního obsahu DNA průtokovou cytometrií v jádrech somatických buněk diploidního ( $2n$ ; pik histogramu 1) a indukovaně triploidního ( $3n$ ; pik histogramu 2) plůdku sivena amerického. Hodnota obsahu DNA v jádrech buněk indukovaně triploidního pstruha duhového (tabulka vpravo nahoře, sloupec Mean) je 150,92 proti 103,24 v jádrech buněk kontrolního diploidního sivena amerického, což potvrzuje úspěšnou indukci triploidie.

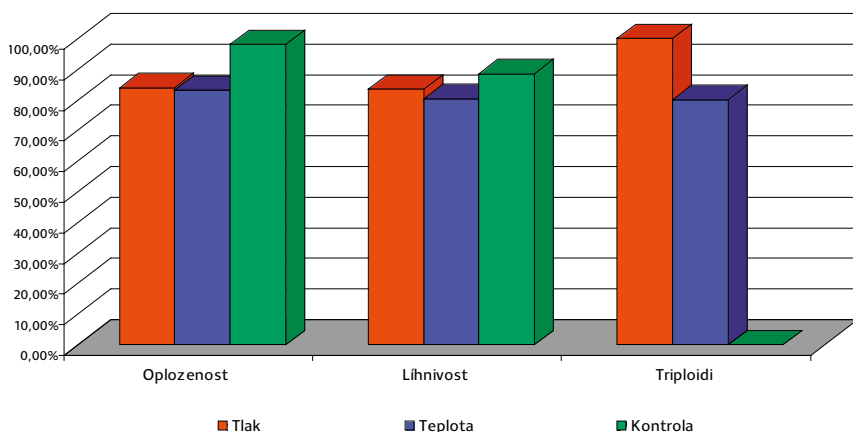
# OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE HROMADNÉ INDUKCE TRIPLOIDIE U SIVENA AMERICKÉHO (*SALVELINUS FONTINALIS*) V PROVOZNÍCH PODMÍNKÁCH

## 4.7. Srovnání úspěšnosti triploidizace šokem hydrostatickým tlakem a teplým šokem

Použití technologie indukce triploidie šokem hydrostatickým tlakem mělo za následek nepatrně vyšší oplozenost jiker než při použití teplého šoku, vyšší líhivost plůdku, až stoprocentní účinnost triploidizace a v důsledku tedy vyšší úroveň produkce triploidů (obr. 5). Lze konstatovat, že při dodržení stanovených parametrů je šok hydrostatickým tlakem s relativně krátkou expoziční dobou šetrnější k oplozeným jikrám a účinnější v indukci u triploidie sivena amerického než provozně jednodušší teplý šok.

## 5. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE VE VÝROBĚ

Výrobní postup byl již v roce 2012 uplatněn v rybářském podniku Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r.o. Technologie hromadné indukce triploidie šokem hydrostatickým tlakem zde byla aplikována za účelem produkce triploidních jedinců sivena amerického. Triploidní plůdek byl následně rozkrmen a vysazen do příkopových rybníčků s cílem produkovat trofejní jedince pro vysazování do sportovních revírů Jihočeského územního svazu ČRS.



**Obr. 5.** Srovnání oplozenosti, líhivosti a úspěšnosti triploidizace pro jednotlivé typy šoků a kontrolu.

## 6. EKONOMICKÝ PŘÍNOS TECHNOLOGIE

Technologie je určena především pro líhně rybářských podniků a chovatelů, zabývajících se produkcí tržního sivena amerického do větších velikostí (nad 500 g) a dále také pro podniky a organizace rybářských svazů, které chtějí v budoucnu produkovat trofejní jedince sivena amerického a vysazovat je do svých sportovních revírů. Účelem aplikace technologie v praxi má být zavedení produkce triploidního plůdku sivena k odchovu do vyšší tržní hmotnosti při vysoké kvalitě tržního produktu. Vlastního přínosu tedy není dosahováno bezprostředně po indukci triploidie, ale při dalším odchovu do vyšší tržní hmotnosti, kdy jsou diploidní siveni američtí již pohlavně zralí, zaostávají v růstu pro tvorbu gamet a projevuje se u nich výrazná agresivita, zatímco sterilní či substerilní triploidní jedinci v tomto období rostou rychleji a nedochází u nich k vzájemnému napadání.

Na druhou stranu je nutné počítat s potřebou většího počtu generačních ryb pro produkci stejného množství plůdku, důsledkem zhoršené líhnivosti jiker, které prodělaly triploidizační šok. Dále je nutné zohlednit vyšší nároky na obsluhu při odstraňování odumřelých jiker a odumřelého váčkového plůdku během inkubace. V ideálním případě je vhodné chovat triploidy odděleně od diploidů, což může částečně zvyšovat požadavky na produkční plochu v rybářských podnicích.

## 7. SEZNAM LITERATURY

- Benfey, T.J., 1999. The physiology and behaviour of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science* 7: 39–67.
- Benfey, T.J., McCabe, L.E., Pepin, P., 1997. Critical thermal maxima of diploid and triploid brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Environmental Biology of Fishes* 49: 259–264.
- Boulanger, Y., 1991. Performance comparison of all-female diploid and triploid brook trout. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Science* 1789: 111–121.
- Carrasco, L., Doroshov, S., Penman, D.J., Bromage, N., 1998. Long-term, quantitative analysis of gametogenesis in autotriploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Reproduction and Fertility* 113: 197–210.
- Deeley, M.A., Benfey, T.J., 1995. Learning ability of triploid brook trout. *Journal of Fish Biology* 46: 905–907.



## OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE HROMADNÉ INDUKCE TRIPLOIDIE U SIVENA AMERICKÉHO (*SALVELINUS FONTINALIS*) V PROVOZNIÍCH PODMÍNKÁCH

- Dubé, P., Blanc, J.-M., Chouinard, M., Noue, J., 1991. Triploidy induced by heat shock in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 92: 305–311
- Flajšhans, M., Havelka, M., Kříž, M., Toncar, J., Veselý, L., 2012. Tlaková jednotka pro indukci polyploidie u ryb. Užitečný vzor č. 23378 zapsaný ke dni 6. 2. 2012. Úřad průmyslového vlastnictví ČR.
- Galbreath, P.F., Samples, B.L., 2000. Optimization of the thermal shock protocol for induction of triploidy in brook trout. *North American Journal of Aquaculture* 62: 249–259.
- Haffray, P., Aubin, J., Houis, V., Labbe, L., Jalabert, B., 2007. Comparison of pressure or thermal treatments on triploid yields and malformations up to swim up stage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 272: S265.
- Kiessling, A., Ruohonen, K., Bjørnevik, M., 2006. Muscle fibre growth and quality in fish. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 49, Special Issue, pp. 137–146.
- Lincoln, R. F., 1989. Triploid induction in rainbow trout using hydrostatic pressure. *Trout News* 8: 8–10.
- Loopstra, D.P., Hansen, A.P., 2008. Induction of triploidy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using hydrostatic pressure. *Fishery Data Series No. 08–22*.
- Maxime, V., 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish Fisheries* 9: 67–78.
- Pandian, T.J., Koteeswaran, R., 1998. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiologia* 384: 167–243.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.-C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. *Polyloid Fish and Shellfish: Production, Biology and Applications to Aquaculture for Performance Improvement and Genetic Containment*. *Aquaculture* 293: 125–156.
- Tiworthy, B.K., Kirubakaran, R., Ray, A.K., 2004. The biology of triploid fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 14: 391–402.
- Werner, C., Poontawee, K., Mueller-Belecke, A., Hoertgen-Schwark, G., Wicke, M., 2008. Flash characteristics of pan-size triploid and diploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in commercial fish farm. *Arch. Tierz. Dummerstorf* 51: 71–83.

**Odborný externí oponent**

Ing. Tibor Krajč, Ph.D.  
Slovenský rybársky zväz – Rada Žilina  
Andreja Kmeťa 20, 010 55 Žilina, Slovenská republika

**Odborný interní oponent**

Ing. Viktor Švinger, Ph.D.  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské  
výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Zátiší 728, 389 25 Vodňany

**Ověření a uplatnění technologie v roce 2012**

Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s.r.o., Rybářská 237, 373 82 Boršov nad Vltavou

**Adresa autorů**

Ing. Miloš Havelka, Ph.D (havelm02@frov.jcu.cz); Ing. Michal Kříž (mkriz@frov.jcu.cz);  
prof. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr. (flajshans@frov.jcu.cz)  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,  
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz,  
Zátiší 728, 389 25 Vodňany

V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých  
Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,  
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

redakce: dr hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D., Ing. Blanka Vykusová, CSc., Zuzana Dvořáková,  
náklad: 200 ks, 1. vydání,  
vytištěno v roce 2014,

Grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství, JENA Šumperk





Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice



ISBN 978-80-87437-87-2



evropský  
sociální  
fond v ČR



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ