

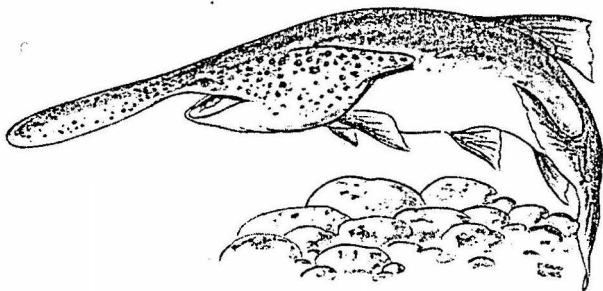
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
VÝZKUMNÝ ÚSTAV RYBÁŘSKÝ A HYDROBIOLOGICKÝ  
VE VODŇANECH

**UMĚLÁ REPRODUKCE VESLONOSA AMERICKÉHO**  
*(POLYODON SPATHULA)*

**EDICE      METODIK**



12  
JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
VÝZKUMNÝ ÚSTAV RYBÁŘSKÝ A HYDROBIOLOGICKÝ VE VODŇANECH  
Oddělení genetiky a šlechtění ryb se šlechtitelskou stanicí



O. LINHART, D. GELA, M. RODINA

42 UMĚLÁ REPRODUKCE VESLONOSA AMERICKÉHO  
(*POLYODON SPATHULA*)

16 č. 64

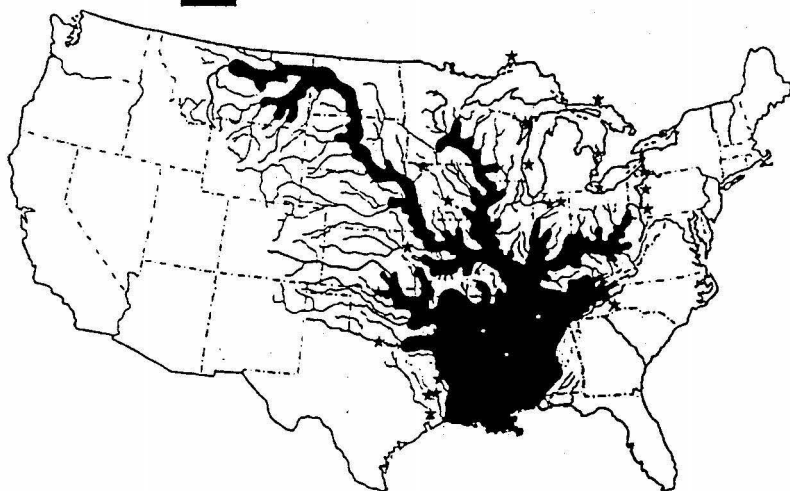
12 Vodňany  
2000

12 ISBN 80 - 85887 - 34 - 7

## 14 Úvod

12 Veslonos americký (*Polyodon spathula*), patříci mezi chrupavčité ryby (Chondrostei) do čeledě veslonosovitých (Polyodontidae), je spolu s jeseterovitými jedním z největších autochtonních sladkovodních druhů USA. Žijících v řece Mississippi a jejích významných přítocích. Vedle veslonosa amerického je čeleď veslonosovitých zastoupena dravě se živícím veslonosem "čínským" (*Psephurus gladius*), který se v několika stovkách jedinců vyskytuje v řece Jang-c'-tiang. Kromě USA se veslonos americký chová v nevelkých počtech v akvakulturních podmínkách v Rusku, Iránu, Maďarsku, Moldávii, Rumunsku, Polsku a Německu (Gengerke, 1986; Carlson a Bonislawsky, 1981; Liu a Zeng, 1988; Mims a kol., 1993b).

### Teritorium výskytu veslonosa na území USA



V literatuře je uváděn jako nejtěžší ulovený veslonos americký jedinec o hmotnosti 83.5 kg (Foltz a Mezers, 1985) a největší o celkové délce 2160 mm (Adams, 1942). Ve třetím roce života v akvakulturních rybníčních chovech dosahuje hmotnosti okolo 2-3 kg. Je to pelagický, planktonofágně se živící druh, filtrující potravu přes žaberní aparát. Preferovanou potravou larválních stádií veslonosa jsou perloočky, které vyžírají intenzivněji než buchanky a menší druhy perlooček (Mims a kol., 1995). V omezeném rozsahu je veslonos pravděpodobně schopen se žít i makrozoobentosem, o čemž svědčí výskyt larev pakomárů v jeho potravě (Mims a kol., 1995). Při dosažení velikosti nad 120 mm je schopen filtrovat pouze větší zooplankton a větší druhy potravy, vzhledem k velikosti filtračního žaberního aparátu (Michaeltz a kol., 1982). Pro planktonofágní způsob výživy je veslonos velmi dobře adaptován zvětšeným rostem, které slouží k usměrňování vody do filtračního aparátu (Mims a kol., 1993a; Kroll a kol., 1994). Potravní orientaci napomáhají také velmi početné ampulární elektroreceptory, které jsou vyvinuty na rostru (Nikolskaya, 1983). Pro svoji kvalitu masa,

kteří je bez kostí, tužší konzistence a bílého zbarvení, s nízkým obsahem tuku s výtěžností filetu na úrovni 33 % (Decker a kol., 1991), je v některých částech USA vyhledávanou pochoutkou místních restaurací. Filet je připravován většinou jako řízek nebo je podáván v uzeném stavu. Obsah tuku z celkové hmotnosti těla je na úrovni 1,5 % v červené svalovině a 0,3 % v bílé svalovině, přičemž 10 - 11 % tuku je tvořeno  $\omega$ -3 polynenasycenými mastnými kyselinami. (Decker a kol., 1991). Hlavním potenciálem veslonosa je ovšem produkce kaviáru připravovaného obdobně jako u jeseterovitých po usmrcení jikernačky z neovulovaných ovocytů (obr. 1). Kaviár veslonosa je o něco světlejší než pravý jeseteří kaviár (Mims, 1999). Jeho hodnota ve finančním vyjádření je o 10 - 30 % nižší než u kaviáru jesetera sibiřského, nicméně dosahuje trvale vysoké hodnoty 500 US dolarů za 1 kg. Produkce veslonosiho kaviáru není v USA nijak malá a podle našich odhadů se pohybuje na úrovni 1 000 kg ročně. Produkce směřuje především na trhy do USA a částečně do Japonska. Tyto země vedle EU největšími importéry jeseteřího kaviáru na světě, pocházejícího převážně z Ruska, Iránu a bývalých sovětských zemí v okolí Kaspického, případně Černého moře. Země jako USA nebo EU v současnosti podporují produkci jeseteřího kaviáru v akvakulturních podmínkách svých zemí chovem v uzavřených systémech. Dá se rovněž předpokládat s postupující celosvětovou ekologickou osvětou o ohrožených druzích, chráněných úmluvou CITES, mezi které patří všichni jeseterovití a veslonosovití, že v budoucnu bude dáována přednost kaviáru deklarovanému původem z akvakulturních chovů, před produktem získaným z ryb ulovených ve volné přírodě.



Obr. 1: Výroba kaviáru (foto D. Gela)

## Odlov generačního materiálu a jeho příprava k výtěru

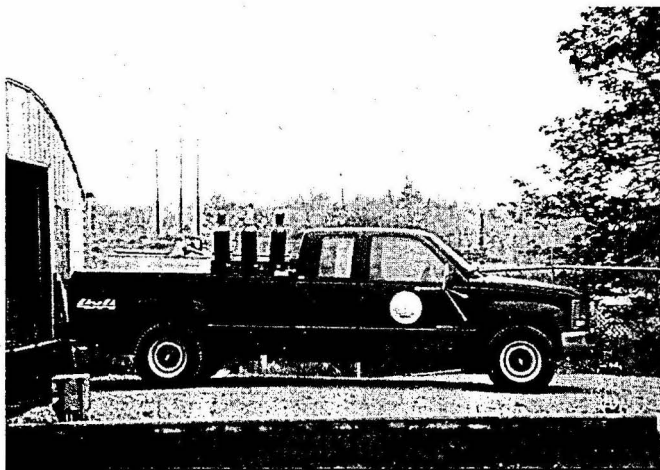
V současnosti neexistuje v USA dostatečné množství generačního materiálu v akvakulturních podmínkách a v převážné většině jsou generační ryby získávány odlovem do tenatových sítí z přírodních zdrojů při tahu proti proudu řeky Mississippi do ústí řek Illinois a Ohio (obr. 2). K přirozenému výtěru dochází od poloviny až konce dubna do začátku května na řece Ohio, kdy teplota vody dosahuje 11 - 14 °C (Ballard a Needham, 1964; Purket, 1963; Russell, 1973) nebo řece Missuri od dubna do června při teplotách okolo 16 °C (Ballard a Needham, 1964; Purket, 1963). Základy metodiky umělého výtěru a chovu veslonosa amerického jsou v USA publikovány Needhamem (1965) a Grahamem a kol. (1986). Odlov na řece Ohio se provádí v období dubna většinou dvakrát za 24 hodin. Jikernačky o hmotnosti 10 - 25 kg se vybírají při odlovu podle charakteru a velikosti ovocytů po biopsii a mlíčáci o hmotnosti 7 - 12 kg podle výrazné pohlavní vyrážky. Transport ryb probíhá v noci nebo brzy ráno, kdy se teplota vody pohybuje okolo 10 °C. Generační ryby se transportují v přepravní bedně s cirkulací vody a okysličováním v hmotnosti 200 - 300 kg veslonosů na 1 000 l vody (obr. 3 a 4). Voda je před přepravou obohacena o NaCl až v pětiprocentní koncentraci. Kuchyňská sůl působí částečnou anestézii ryb, umožňující transport veslonosa po dobu až 12 hodin. Po transportu jsou generační ryby v případě shodných teplot vody umístěny do manipulačního rybníčku (obr. 5), nebo jsou krátkodobě přechovávány v manipulační nádrži, nejlépe kruhového tvaru (příp. čtvercového se zaoblenými rohy) (obr. 6) o dostatečném průtoku a objemu vody umožňující generačním rybám volnost pohybu (snížení vlivu stresových faktorů manipulací a změnou prostředí) a následně vysazeny do rybníčku. Veslonosy je nutno vysazovat jednotlivě z důvodu asistence chovatele u každého jedince až do doby, kdy je schopný samostatného pohybu v nádrži. V případě, že se veslonos v nádrži nepohybuje (neplave), dochází k jeho postupnému zadušení nedostatkem kyslíku. Důvodem je malá schopnost „pumpování vody“ žaberním aparátem. Samostatného pohybu ryb je dosaženo po promývání žaber proudem vody v bazénu nebo opatrným pohybem „tam a zpět“ celou generační rybou ponořenou v nádrži a uchopenou za ocasní násadec. Takto ošetřená ryba je plně vitální do 2 - 3 min po oživovacím procesu. Před výtěrem se generační ryby přemísťují do líhně, kdy jedna generační ryba je umístěna do jedné kruhové nádrže o objemu vody 3 000 l s průtokem 12 l.min<sup>-1</sup>, 9 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> s postupnou teplotou v průběhu 12 h na 17 - 19 °C (Mims a kol., 1997) (obr. 7). Před vlastní injikací je vhodné posoudit připravenost jikernaček k výtěru podle polohy jádra oocyty. Biopsii přes břišní stěnu odebrané oocyty se krátce několik minut považí a po rozříznutí od animálního pólu na dvě části se zjišťuje mikroskopicky procentuální poloha jádra z celkového průměru oocyty (Shelton a kol., 1995).

Ovulace je vyvolána hormonálně injikací analogu LHRH, des-Gly<sup>10</sup> (D-Ala<sup>6</sup>) LHRH ethylamide (Sigma) v dávce 0,05 mg.kg<sup>-1</sup> rozpuštěného ve fyziologickém roztoku 0,9 % (Graham a kol., 1986). Jikernačkám je analog většinou injikován ve dvou dávkách, přičemž první dávka obsahuje 1/10 z celkové dávky analogu a druhá dávka, tzn. 9/10 z celkové dávky, je podávána za 12 hodin. K ovulaci obvykle dochází za 12 až 30 hodin po druhé dávce v závislosti na připravenosti ryb k výtěru.

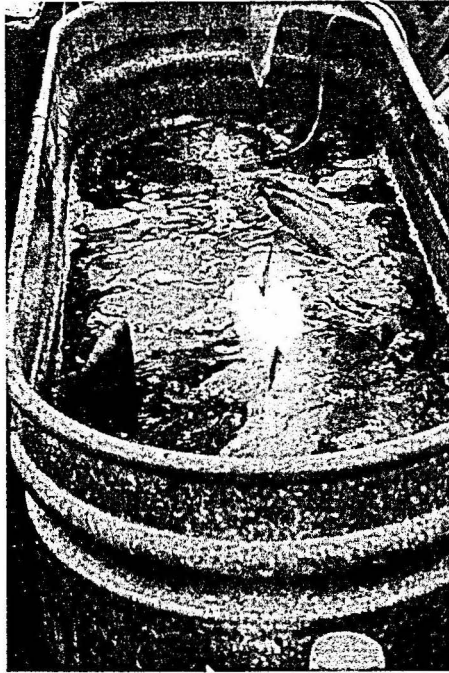
Spermie je vyvolána rovněž po injikaci analogu LHRH, des-Gly<sup>10</sup> (D-Ala<sup>6</sup>) LHRH ethylamide (Sigma) ovšem v dávce 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> rozpuštěného ve fyziologickém roztoku s 0,9% koncentrací NaCl. K výraznější spermiaci mlíčáků dochází do 24 h po injikaci s možností odběru spermatu po dobu 3 - 5 dnů. Kapří hypofýza v dávce 4 mg.kg<sup>-1</sup> se neosvědčila a dosažené parametry spermie byly 5 - 6krát nižší než při použití analogu (Linhart a kol., 2000a).



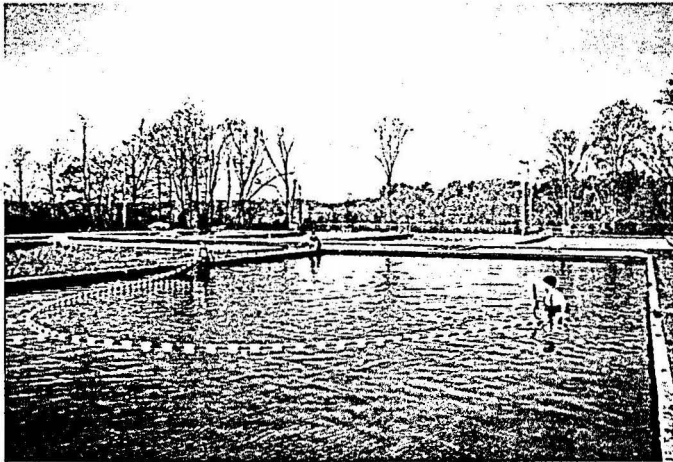
Obr. 2: Odlov generačních veslonosů na řece Ohio (foto D. Gela)



Obr. č. 3: Transport generačních ryb do líhně (foto D. Gela)



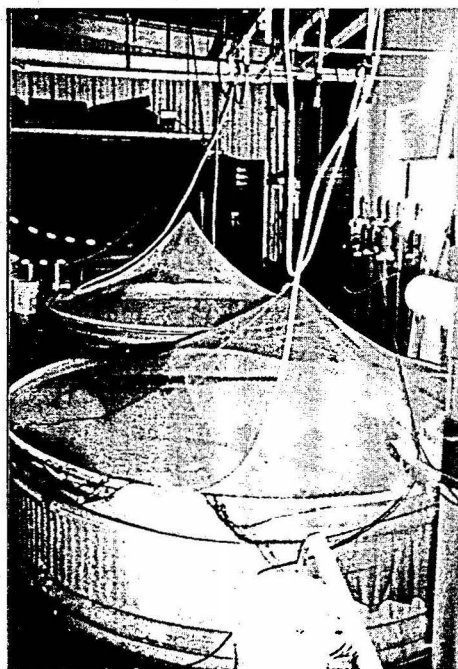
Obr. 4: Generační ryby v anestézii NaCl na lodi (foto D. Gela)



Obr. 5: Odlov generačních ryb z manipulačního rybníku (foto O. Linhart)



Obr. 6: Nádrže pro přechování generačních ryba odběr spermatu (foto O. Linhart)

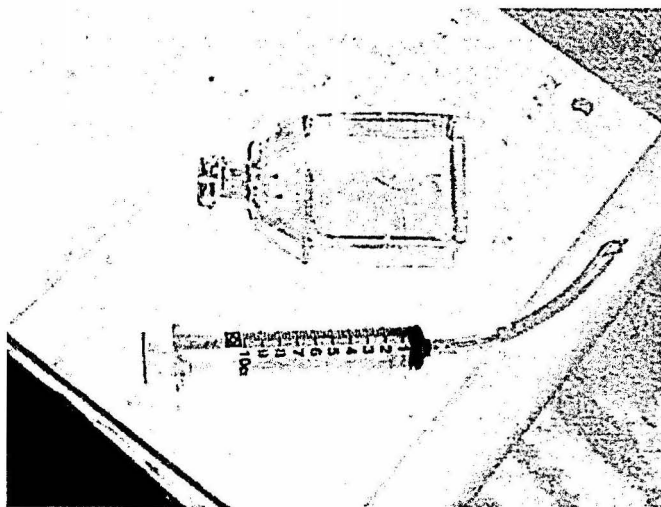


Obr. 7: Příprava injikovaných generačních ryb k výtěru v kruhových nádržích o objemu 3000 l (foto D. Gela)



## Výtěr mlíčáku

Sperma je odebíráno po osušení mlíčáka v místě pohlavního otvoru do suché jednorázové stříkačky o objemu 10 ml s kanylou 30 - 60 mm dlouhou o  $\varnothing$  5 mm (obr. 8). Při výtěru se mlíčák uchopí za ocasní násadec a rostrum a sperma je odsáváno do stříkačky po zasunutí kanyly do chámovodu (obr. 6). Anestézie mlíčáků není nutná. Odebrané sperma je možné krátkodobě uchovávat ve 100 ml kontejnerech pro buněčné kultury v aerobních podmínkách po dobu až 72 h v chladnu a temnu při 0 - 4 °C (obr. 8). Spermie se pohybuje na úrovni 30 - 100 ml spermatu na mlíčáka a koncentrace spermií na úrovni 0,1 - 2,0.10<sup>9</sup>.ml<sup>-1</sup> (Linhart a kol., 2000a). Před vlastní inseminací je posouzena motilita spermií a zjištěna úroveň koncentrace spermií spektrofotometricky (Linhart a kol., 2000 a). U spermií veslonosa byla zjištěna pouze ojedinělá spontánní motilita spermií po dobu 5 - 10 s (Linhart a kol., 1995). Procento pohyblivých spermií je obvykle na úrovni 100 % zhruba od 10 s po aktivaci v aktivačním roztoku (10 mM NaCl s 20 mM Tris-HCl, pH 8,5) s progresivním pohybem po dobu 2 - 3 min. Pohyb spermií na úrovni 1 - 5 % byl pozorován ještě po 6 - 7 min od jejich aktivace. Rychlost pohybu spermií nepřesahuje 150  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  do 15 s po aktivaci spermií s frekvencí pohybu bičiku na úrovni 50 - 60  $\text{Hz}\cdot\text{s}^{-1}$  (Cosson a Linhart, 1996 ; Cosson a kol., 2000).



Obr. 8: Souprava k odběru a uchování spermatu (foto O. Linhart)

## Hodnocení pohyblivosti spermií

Pohyb spermií je pozorován v mikroskopu se s kondenzorem vytvářejícím tmavé pole a objektivem Planachromát 20x, aperturou 0,50 s halogenovým světlem nebo pro zjišťování frekvence pohybu spermií se stroboskopickým světlem. U veslonosa vzhledem k řídkému spermatu se většinou neprovádí nafedění spermatu imobilizačním roztokem, a to z důvodu možnosti individuálního posuzování pohybu spermií, tak aby na monitoru bylo maximálně do

60 pozorovaných spermií. Hodnocení motility spermií se provádí v kapce aktivačního roztoku (výše uvedeného) nebo vodě z líhně v objemech od 20 do 50  $\mu\text{l}$  s přikápnutím od 1 do 0,1  $\mu\text{l}$  spermatu mikrodávkačtem. Po dobrém promísení spermatu v aktivačním roztoku na podložním skle umístěném na stolku mikroskopu se vzorek překryje krycím sklem s následným pozorováním pohybu spermií zhruba do 10 s po jejich aktivaci. Mikroskopický obraz je přenášen kamerou CCD (Sony) na monitor a nahráván na S-VHS video Sony SVO-9500MDP, případně VHS video. Vlastní záznam pohybu spermií se pořizuje na nezbytně nutnou dobu k zjištění procenta pohybu spermií a rychlosti pohybu spermií. Po aktivaci spermií v kapce aktivačního roztoku je rovněž nahráván vnitřní čas s viditelným záznamem na obrazovce v synchronizaci s rychlostí záznamu videa (Linhart a kol., 2000a).

## Procento a rychlost pohybu spermií

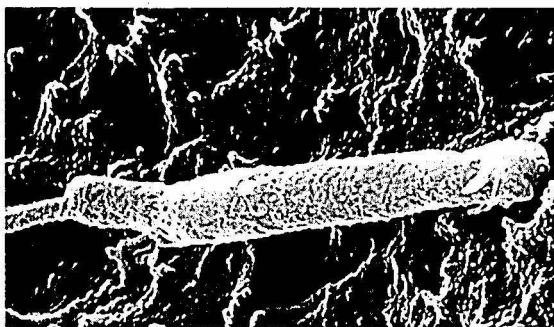
Rychlost pohybu spermií a úroveň motility (podíl pohyblivých spermií) jsou určovány z videozáznamu mikroskopického obrazu pohybu spermií. Videozáznam je reprodukován po jednotlivých snímcích a vybrané 3 snímky jsou digitalizovány pomocí videokarty počítače. Tyto 3 snímky jsou pomocí softwaru na analýzu obrazu (Micromage 3.0.1) složeny v jeden tak, že první je vložen jako červený, druhý jako zelený a třetí jako modrý. Výsledkem je barevný obraz trajektorií pohybujících se spermií (daný třemi body v barvách červený, zelený a modrý) a bílý obraz nepohybujících se spermií. Motilita je poté určena jako procentický podíl pohybujících se spermií (znázorněny barevně) ze všech spermií zobrazených na obrazovce. Rychlost pohybu spermií je vypočítávána podle vzorce rychlost = dráha / čas. Délka dráhy je měřena pomocí softwaru na analýzu obrazu jako vzdálenost mezi červeným, zeleným a modrým bodem (obrazem spermie). Čas je určen podle odstupu vybraných snímků. Doba mezi dvěma videonímky (systému PAL) je 40 ms. Výsledná rychlost je udávána v  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  (Linhart a kol., 2000 a).

## Frekvence pohybu bičíku

K měření frekvence pohybu bičíku využíváme stejnou mikroskopickou techniku po výměně světla halogenového za světlo stroboskopické (Chadwick-Helmut) se seřízeným světelným režimem stabilizujícím synchron sinusoidy bičíku. Výsledná frekvence pohybu bičíku je manuálně zapisována z displeje stroboskopické lampy a představuje frekvenci pohybu bičíku v  $\text{Hz}\cdot\text{s}^{-1}$  v určitém čase po aktivaci motility spermií (Billard a kol., 2000; Cosson a kol., 1997, 2000).

## Morfologie spermie veslonosa amerického

Oproti kostnatým rybám mají chrupavčité ryby, tedy jeseterovité a veslonosovité, na hlavičce spermie akrosom. Hlavička má protáhlý tvar od 4,8 do 5,55  $\mu\text{m}$  a průměr od 0,901 do 1,05  $\mu\text{m}$ . Střední část je cylindrického tvaru o délce 1,05 - 1,35  $\mu\text{m}$  a průměru 0,68-0,75  $\mu\text{m}$  a její posteriorní část v podobě cytoplazmatického korálku obepíná základnu bičíku (obr. 9). Bičík dosahuje délky 29-30  $\mu\text{m}$  a průměru 0,6-0,75  $\mu\text{m}$  s dvěma laterálními lemy nebo 0,25-0,3  $\mu\text{m}$  bez laterálních lemů. Bičík je zakončen u obou druhů terminální částí v délce 1,6-1,8  $\mu\text{m}$ , který většinou nemá laterální lemy (Linhart a kol., 2000b).



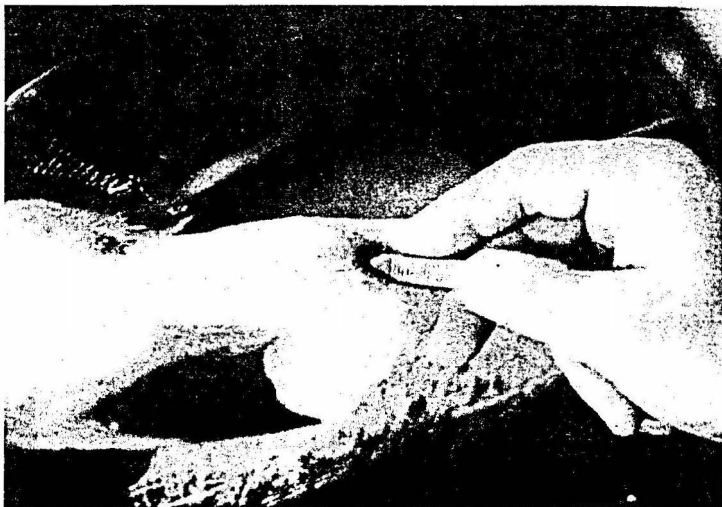
Obr.9: Spermie veslonosa amerického (*Polyodon spathula*) (foto S. Kudo a O. Linhart)

### Výtěr jikernaček

Jikry se vytírají nebo odebírají do suché misky 4 - 5 l po osušení jikernačky v místě pohlavního otvoru. Plodnost jikernaček se v průměru pohybuje od 17 000 do 26 472 ks jiker na kg hmotnosti jikernačky (Gengerke a kol., 1986; Russell, 1973, 1986) s gonadosomatickým indexem u větších jikernaček na úrovni 15 - 25 % (Purkett, 1963) a obsahem 45 - 50 ks jiker v 1 g jiker. Při výtěru jikernaček je v praxi možné použít tři metody: výtěr ovulovaných jiker po císařském řezu břišní dutiny, výtěr po proříznutí vejcovodu v místě vyústění do pohlavní papily podle Štěcha a kol. (1999) nebo tradiční metodou výtěru. První metoda se provádí otevřením břišní dutiny ventrálním řezem v délce 100 - 200 mm (podle velikosti jikernačky), odběrem ovulovaných jiker, dezinfekcí řezu a následným zašitím řezu břišní dutiny. Celá operace trvá zhruba 30 min a přežití jikernaček je v závislosti na kvalitě celého chirurgického zákroku na úrovni 50 %. V literatuře je u jeseterovitých ryb uváděna vyšší úroveň přežití, nicméně u veslonosa je v praxi nízká. Druhá metoda podle Štěcha a kol. (1999) spočívá v proříznutí vejcovodu v délce 20 mm v místě těsně před vyústěním do pohlavního otvoru a výtěrem jiker klasickým způsobem, tzn. masáží břišních partií (obr. 10). Tato metoda je velmi rychlá s dobou výtěru jiker okolo 10 min a nulovou mortalitou jikernaček. Třetí metoda je klasická metoda výtěru jikernaček masáží břišní dutiny, která je velmi zdoluhavá a trvá v průměru 8 h.

Procento kulení u výtěrové metody s proříznutím vejcovodu se pohybuje v intervalu 74 a 95 % vykuleného váčkového plůdku a shoduje se s výsledky v případě tradiční metody výtěru nebo při použití císařského řezu. Zhruba za jeden měsíc od výtěru jikernaček nebyla zjištěna sekundární infekce u jikernaček vytřených metodou spočívající v proříznutí vejcovodu v místě jeho vyústění. Naproti tomu u jikernaček podrobených císařskému řezu byla zaznamenána velmi často infekce s masovým úhynem. Použití metody s proříznutím vejcovodu, nebo-li "minimální chirurgické metody", pro výtěr jiker má řadu předností oproti tradiční metodě nebo metodě s císařským řezem:

- 1) jikry jsou vytřeny rychle, tzn. generační ryby jsou mimo vodní prostředí po dobu 5 - 10 min;
- 2) zkracuje se čas nutný k výtěru jikernačky;
- 3) v případě nekompletní ovulace jiker je možné jikernačky vrátit zpět do vody a čekat na úplnou ovulaci jiker do břišní dutiny a opakovat výtěr;
- 4) jikernačky nejsou vystavovány tak velkému stresu, mortalita jikernaček je nulová;
- 5) nákaza nebo infekce nebyla u jikernaček zjištěna na rozdíl od komplikovaného hojení u jikernaček po císařském řezu.



Obr. 10: Minichirurgická metoda při výtěru jikernaček veslonosa amerického. Skalpelem č. 11 je prořezáván vejcovod těsně před vyústěním pohlavního otvoru. (foto O. Linhart)

### Studium morfologie spermií a ultrastruktury jiker před a po oplození

Inseminované a aktivované jikry po umělém výtěru u veslonosa amerického jsou v časových intervalech fixovány 0,1 M kakodylátovým pufrem s 2,5 % glutaraldehydem a 3 % sacharózou (pH 7,2). Neinseminované a neaktivované spermie jsou rovněž fixovány stejným způsobem. Vlastní metoda přípravy vzorků pro skenovací elektronový mikroskop (SEM) je obsažena v publikaci Linhart a Kudo (1997).

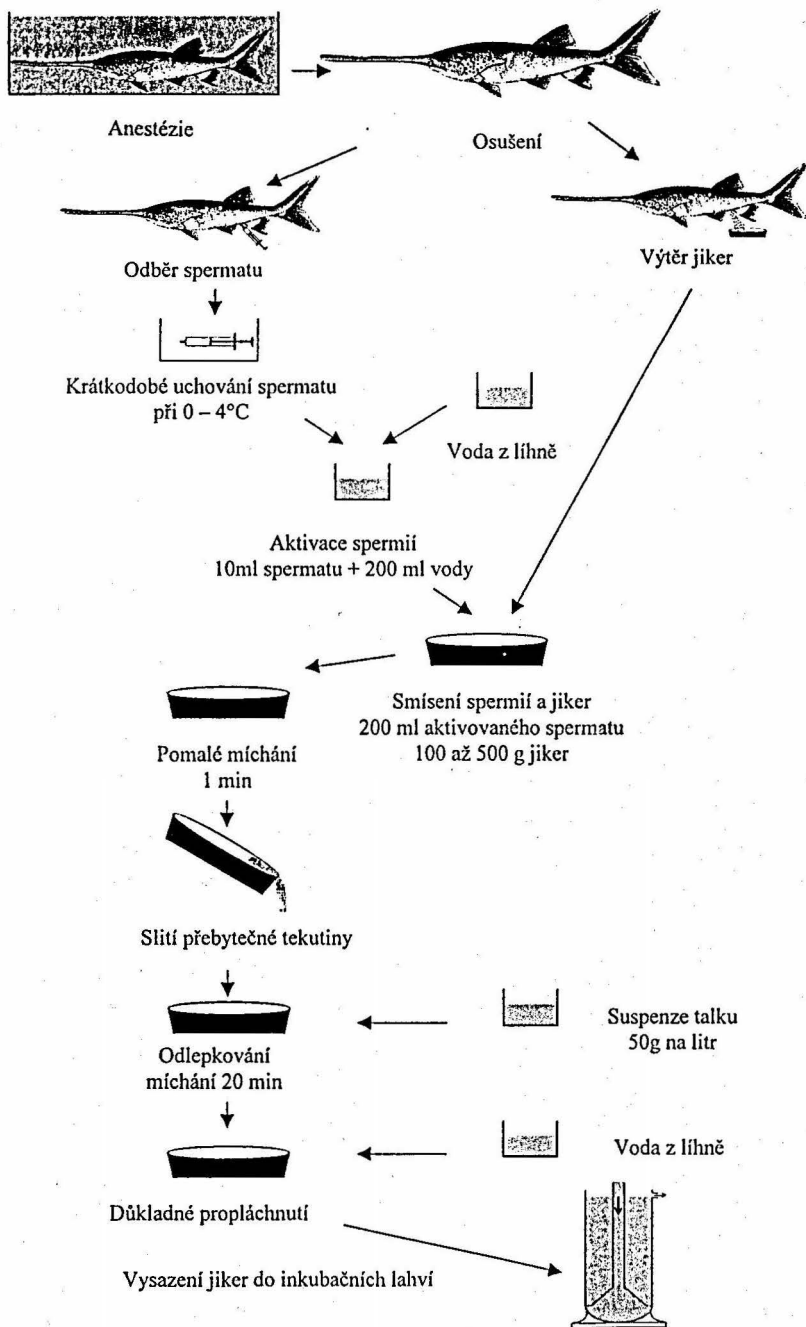
### Ultrastruktura povrchu jiker a průnik spermií

Ultrastruktura povrchu jiker veslonosa amerického byla studována skenovacím elektronovým mikroskopem. U zralých jiker veslonosa bylo zjištěno od 4 do 12 mikropylí na animálním pólu jikry. Na dně mikropyle bylo nalezeno specializované místo pro průnik

spermie do jikry, které vytváří jakýsi prstenec s výběžky. Bylo nalezeno celkem 5 - 9 těchto specializovaných míst na zralé jikře. Vcelku tento počet koresponduje s počtem mikropylí. Minutu po přidání vody k aktivaci spermií a jiker byl pozorován cytoplazmatický proces vyhéznutí cytoplazmy, tzv. oplozovací kón u několika mikropylí (Linhart a Kudo. 1997). Jehož funkcí je zamezení průniku dalších spermií. Celý proces oplození je tedy velmi rychlý a předpokládá se, že spermie v průběhu 1 min po aktivaci jiker pronikne do jikry.

## **Umělá inseminace, aktivace, oplození, odlepkování a inkubace jiker**

Sperma alespoň od tří mličáků se smísí. Na rozdíl od kostnatých ryb se u jeseterovitých a veslonosovitých provádí nejprve aktivace spermií a aktivované spermie jsou následně smíseny s jikrami. Heterosperma o objemu 10 ml je naředěno 200 ml vody z líhně o teplotě 17 °C, promícháno a okamžitě nalito na 0,1 - 0,5 kg jiker v misce. Následuje pozvolné míchání po dobu 1 min za pomoci ptačího brka. Po jedné min od aktivace gamet následuje fáze odlepkování. Přebytek vody je slit a přidána suspenze talku v poměru 1:1 k objemu jiker. Talk značky Humco lab. Texakama, Texas, USA, je předem naředěn vodou z líhně v množství 50 g.l<sup>-1</sup>. Celý proces odlepkování spočívá v mírném míchání jiker po dobu 20 min. Po odlepkování jiker je talk odmyt z misek propláchnutím větším množstvím vody. Následně jsou jikry umístěny do McDonaldových lahví o objemu 10 l (americká obdoba Chaseových lahví) s průtokem vody 3,5 l.min<sup>-1</sup> na začátku inkubace a po 3-4 dnech s dvojnásobným průtokem při 16 - 18 °C (obr. 11). K inkubaci jiker je nevhodnější využívat vyšší teplotu na úrovni 18 °C z důvodu rychlejší inkubace a tím snížení embryonální mortality především z důvodu menšího rozvoje plísni. Plůdek se kulí za 7 - 9 dnů. Z inkubačních lahví je automaticky vyplavován a jímán do uhelonových kolíbek umístěných v 100 l plastových konických aparátech (obdoba aparátů pro váčkový plůdek kapra). Zhruba po 6 - 7 dnech přechází plůdek z endogenní na exogenní výživu. Plůdek je přeloven a odchováván v zemních rybníčkách s připravenou potravou nebo v bazénech s rozkrmem artemiemi po dobu 3 dnů a následně odkrmován zooplanktonem.



Obr. 11: Schéma umělého výtěru veslonosa (M. Rodina)

## Použitá literatura

- Adams, A., 1942. Age determination and rate of growth in *Polyodon spathula* by means of the growth rings of the otoliths and dentary bones. *Am. Wildl. and Nat.*, 28(3): 617-630.
- Ballard, W.W., Needham, R.G., 1964. Normal embryonic stages of *Polyodon spathula* Walbaum. *J. Morphol.*, 114: 465-478.
- Billard, R., Cosson, J., Linhart, O., 2000. Changes in the flagellum morphology of intact and frozen/thawed Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) sperm during motility. *Aquaculture Research*, 31, (v tisku).
- Carlson, D.M., Bonislavsky, P.S., 1981. The paddlefish (*Polyodon spathula*) fisheries of the midwestern United States. *Fisheries.*, 6(2): 17-22, 26-27.
- Cosson, J., Linhart, O., 1996. Paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa: Effects of potassium and pH on motility. *Folia zoologica*, 45: 361-370
- Cosson, J., Billard, R., Cibert, Ch., Dreanno, C., Linhart, O., Suquet, M., 1977. Movements of fish sperm flagella studied by high speed videomicroscopy coupled to computer assisted image analysis. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 44: 103-113.
- Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish (*Polyodon spathula*) and shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus*) spermatozoa. *J. Fish Biol.*, 56, (v tisku).
- Decker, E.A., Crum, A.D., Mims, S.D., Tidwell, J.H., 1991. Processing yield and composition of paddlefish (*Polyodon spathula*), a potential aquaculture species. *J. Agricult. Food Chemistry*, 39: 686-688.
- Folz, D.J., Mezers, L.S., 1985. Management of the lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, population in the Lake Winnebago system, Wisconsin. In: Binkowski, F.P., Doroshov, S.I. (Eds.) *Nat. Am. Sturgeons. Biol. Aqua. Potential.*, Junk Publishers, Dordrecht, pp. 135-146.
- Gengerke, T.W., 1986. Distribution and abundance of paddlefish in the United States. In: Dillard, J.G., Graham, L.K., Russell, T.R. (Eds.) *The paddlefish: Status, Management, and Propagation.* American Fisheries Society, North Central Division, Special Publication 7, Bethesda, Maryland, pp. 22-35.
- Graham, L.K., 1986. Establishing and maintaining paddlefish populations by stocking. In: Dillard, J.G., Graham, L.K., Russell, T.R. (Eds.) *The paddlefish: Status, Management and Propagation.* American Fisheries Society, North Central Division, Special Publication 7, Bethesda, Maryland, pp. 95-105.
- Graham, L.K., Hamilton, E.J., Russell, T.R., Hicks, C.E., 1986. The culture of paddlefish: A review of methods. In: Dillard J.G., Graham, L.K. and Russell, T.R. (Eds.) *The paddlefish: Status, Management and Propagation.* American Fisheries Society, North Central Division, Special Publication 7, Bethesda, Maryland, pp. 78-94.
- Kroll, K.J., Vaneennaam, J.P., Doroshov, S.I., Linares, J., 1994. Growth and survival of paddlefish fry raised in the laboratory on natural and artificial diets. *Progres. Fish-Cult.*, 56: 169-174.
- Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., 1995. Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus* Rafinesque, 1820) and paddlefish (*Polyodon spathula* Walbaum, 1792). *J. Fish Biol.*, 47: 902-909.
- Linhart, O., Kudo, S., 1997. Surface ultrastructure of paddlefish (*Polyodon spathula* Walbaum, 1792) eggs before and after fertilization. *J. Fish Biol.*, 51: 573-582.
- Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Rodina, M., 2000a. Spermiation of paddlefish (*Polyodon spathula*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary powder. *Aquatic Living Resources* (v tisku).

- Linhart, O., Cosson, J., Kudo, S., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2000b Structure and motility parameters of paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. In: Symposium of World Aquaculture, Nice, May 2000, poster, (abstr.).
- Liu, C., Zeng, Y., 1988. Notes on the Chinese paddlefish, *Psephurus gladius* (Martens). *Copeia*: 484-487.
- Michaletz, P.H., Rabeni, C.F., Taylor, W.W., Russell, T.R., 1982. Feeding ecology and growth of young-of-the-year paddlefish in hatchery ponds. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 111: 700-709.
- Mims, S.D., 1999. Paddlefish for Kentucky aquaculture. In: Symp. on Paaddlefish Caviar and Aquaculture. Louisville, Kentucky, 2 pp.
- Mims, S.D., Clark, J.A., Williams, J.C., Rouse, D.B., 1993a. Comparisons of two by-products and a prepared diet as organic fertilizers on growth and survival of larval paddlefish, *Polyodon spathula*, in earthen ponds. *J. Appl. Aquacult.*, 2(3/4): 171-187.
- Mims, S.D., Georgi, T.A., Chen-Han, L., 1993b. The Chinese paddlefish, *Psephurus gladius*: biology, life history, and potential for cultivation. *World Aquaculture*, 24(1): 45-48.
- Mims, S.D., Clark, J.A., Williams, J.C., Lovshin, L.L., 1995. Food selection by larval paddlefish (*Polyodon spathula*) supplied with rice bran to promote production of live foods, with prepared diets, or with their combination in earthen ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, 26(4): 438-446.
- Mims, S.D., Shelton, W.L., Linhart, O., Wang, C., 1997. Induced meiotic gynogenesis of paddlefish *Polyodon spathula*. *J. World Aquacult. Soc.*, 28(4): 334-343.
- Needham, R.G., 1965. Spawning of paddlefish induced by means of pituitary material. *Progres. Fish-Cult.*, 27: 13-19.
- Nikolskaja, M.P., 1983. Osobennosti razvitija sistemy ampularnych elektrosreptorov v ontogeneze veslonosa (*Polyodon spathula*) i osetrovych ryb. (Ontogenetic development of ampullar electroreceptors in the paddlefish, *Polyodon spathula* and in sturgeons. *Dokl. AN SSSR.*, 268 : 474-477.
- Purkett, C.A. Jr., 1963. Artificial propagation of paddlefish. *Progres. Fish Cult.*, 25(1): 31-33.
- Russell, T.R., 1973. A study of artificial propagation of the paddlefish. Final Report, Project No. F-1-R-21, Study no. S-5. Missouri Dep. Conserv., Jefferson City, MO, 16 pp.
- Russell, T.R., 1986. Biology and life history of the paddlefish. A Review. In: Dillard J.G., Graham, L.K., Russell, T.R. (Eds.) *The paddlefish: Status, Management and Propagation*. American Fisheries Society, North Central Division, Special Publication 7, Bethesda, Maryland: 2-21.
- Shelton, W.L., Mims, S.D., 1995. Oocyte staging in paddlefish, *Polyodon spathula*. *Trans. Ky. Acad. Sci.*, 56(1-2): 22-27.
- Štěch, L., Linhart, O., Shelton, W.L., Mims, S.D., 1999. Minimally invasive surgical removal of ovulated eggs from paddlefish (*Polyodon spathula*). *Aquaculture International*, 7: 129-133.

## Poděkování

Výzkumné práce, na jejichž základě vznikla tato metodika, byly umožněny autorům díky projektu Ministerstva zemědělství ČR, NAZV č. 6051 a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, č. CEZ : J06/98 : 126100001. Poděkování rovněž náleží lektorovi.



Lektoroval:

Ing. Luděk Štěch, Alcedor s. r. o., Haškova 6, 370 01 České Budějovice

Adresy autorů:

Ing. Otomar Linhart, DrSc, Ing. David Gela, Ing. Marek Rodina, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, oddělení genetiky a šlechtění ryb se šlechtitelskou stanicí, 389 25 Vodňany  
e-mail : [linhart@vurh.jcu.cz](mailto:linhart@vurh.jcu.cz)

---

V edici Metodik vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech – Náklad: 150 ks - Tisk: Tiskárna Public – M. Kreuz, 389 01 Vodňany