

Reproduktivne značajke oštrulje *Aulopyge huegeli* Heckel, 1843 (Cyprinidae, Actinopterygii)

Mihalić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:260855>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Marija Mihalić

**Reproduktivne značajke oštrulje *Aulopyge huegelii* Heckel, 1843
(Cyprinidae, Actinopterygii)**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj rad, izrađen u Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Perice Mustafića, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra edukacije biologije i kemije.

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Perici Mustafiću što mi je omogućio izradu diplomskog rada u Laboratoriju za kralješnjake.

Posebnu zahvalu dugujem Tanji Mihinjač, mag. biol. exp i dr. sc. Romani Gračan, bez čijih savjeta i beskrajne pomoći ovaj rad ne bi bio moguć. Hvala Vam na posvećenom vremenu.

Hvala i tehničarki Zrinki Benčini, na pomoći i druženjima za vrijeme dugotrajnih boravaka u laboratoriju.

Zahvaljujem svojim kolegama, prijateljima i obitelji, koji su uljepšali moje studentske dane.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Reproduktivne značajke oštrulje *Aulopyge huegelii*, Heckel 1843
(Cyprinidae, Actinopterygii)

Marija Mihalić
Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Oštrulja (*Aulopyge huegelii*, Heckel, 1843) pripada porodici Cyprinidae (šaranke) te je jedini predstavnik roda *Aulopyge*. Oštrulja je endem jadranskog slijeva, a u Hrvatskoj se može pronaći u rijekama Cetini, Krki i Čikoli. Cilj ovog rada je kombinacijom morfometrijskih i histomorfometrijskih mjerenja te gonadosomatskog indeksa, dobiti dosad nepoznate informacije o osnovnim reproduktivnim karakteristikama ove ugrožene vrste. Jedinke su prikupljene u rijekama Krki i Čikoli, a ukupno je analizirano 29 jedinki muškog i 57 jedinki ženskog spola. Ženke dosežu veće duljine tijela od mužjaka (prosječna standardna duljina tijela mužjaka bila je 103,93 mm, a ženki 112,71 mm). Najveća izmjerena masa tijela za mužjaka je 47,60 g, a za ženku 53,74 g. Izračunat je gonadosomatski indeks (GSI), čije vrijednosti dosežu vrhunac u travnju te postupno opadaju do srpnja. Histomorfometrijska mjerenja trajnih preparata testisa pokazuju da su svi analizirani mužjaci spolno zreli. Izmjerena je veličina jaja u jajnicima i određen broj zrelih jaja, odnosno izračunat je fekunditet jednog mrijesta (BF), koji je iznosio od 68 do 1154 zrelih jaja. Zrela jaja pronađena su samo kod ženki ulovljenih od travnja do srpnja. Rezultati pokazuju da reproduktivni ciklus oštrulje počinje u travnju (pri temperaturama od oko 12 °C) i traje do kraja srpnja. Rezultati ovog rada mogu biti primjenjivi u planiranju znanstveno utemeljene zaštite za ovu vrstu u regionalnim krškim rijekama i jezerima.

(33 stranice, 23 slike, 1 tablica, 24 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: ribe, reprodukcija, *Aulopyge huegelii*, jadranski slijev

Voditelj: izv. prof. dr. sc. Perica Mustafić

Ocjenjivači: 1. izv. prof. dr. sc. Perica Mustafić
2. izv. prof. dr. sc. Ines Radanović
3. izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović-Peroković

Rad prihvaćen: 1. rujna 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Division of Biology

Graduation Thesis

Reproduction of the *Aulopyge huegelii* Heckel, 1843
(Cyprinidae, Actinopterygii)

Marija Mihalić
Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The Dalmatian barbelgudgeon (*Aulopyge huegelii*, Heckel, 1843) belongs to the family Cyprinidae and is the only member of the genus *Aulopyge*. This species is endemic to the Adriatic Basin, and can be found in the Croatian rivers Cetina, Krka and Čikola. The aim of this study was to obtain previously unknown information on reproduction of this endangered species, using a combination of morphometric and histomorphometric measurements and gonadosomatic index. The specimens were collected in the rivers Krka and Čikola, a total of 29 male and 57 female individuals. Females reach greater body length than males (average standard body length for males was 103,93 mm, and 112,71 mm for females). The highest measured body weight for males was 47,60 g and 53,74 g for females. Gonadosomatic index was calculated and its values reach maximum in April, then gradually decline to July. Histomorphometric analysis of testes showed that all analysed males were sexually mature. Size of the eggs in the ovaries was measured and the number of mature eggs was determined. Fecundity of one spawning ("batch fecundity") was calculated and it was in range from 68 to 1154 mature eggs. Mature eggs were only found in females captured from April to July. The results show that the reproductive cycle of this species begins in April (at temperatures of about 12 ° C) and lasts until the end of July. The results of this study can be used in the planning of science-based protection of this species in regional karst rivers and lakes.

(33 pages, 23 figures, 1 table, 24 references, original in: croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library.

Key words: fish, reproduction, *Aulopyge huegelii*, Adriatic basin

Supervisor: Dr. Perica Mustafić, Assoc. Prof.

Reviewers: 1. Dr. Perica Mustafić, Assoc. Prof.
2. Dr. Ines Radanović, Assoc. Prof.
3. Dr. Vesna Petrović-Peroković, Assoc. Prof.

Thesis accepted: 1st September, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Raznolikost riba	1
1.2. Razmnožavanje riba.....	1
1.3. Sistematika oštrulje.....	3
1.4. Opće karakteristike oštrulje	4
1.4.1. Područje rasprostranjenosti oštrulje	4
1.4.2. Ugroženost oštrulje.....	5
1.5. Cilj istraživanja	6
2. MATERIJAL I METODE	7
2.1. Područje istraživanja.....	7
2.2. Prikupljanje oštrulja na terenu.....	9
2.3. Morfometrijska mjerenja jedinki i izračun gonadosomatskog indeksa	10
2.4. Izračun fekunditeta i sezonskog ciklusa ženki oštrulja	11
2.5. Histomorfometrijska analiza muških gonada.....	13
3. REZULTATI	16
3.1. Analiza populacije po spolu	16
3.2. Gonadosomatski indeks.....	18
3.3. Veličina jaja ženki oštrulja	19
3.4. Fekunditet oštrulja	21
3.5. Utvrđeni stadiji spermatogeneze i sezonski ciklus	23
4. RASPRAVA	26
5. ZAKLJUČAK	29
6. LITERATURA.....	30
7. ŽIVOTOPIS.....	33

1. UVOD

1.1. Raznolikost riba

Unatoč njihovoj velikoj raznolikosti, ribe možemo jednostavno definirati kao vodene kralježnjake koji imaju škrge te su im udovi razvijeni u obliku peraja. Ribe možemo pronaći u različitim vodenim staništima: 7000 m ispod površine oceana pa sve do 5000 m nadmorske visine. Neke vrste podnose iznimno visoke temperature vode, do 42 °C, dok neke možemo naći i u vodama temperature ispod nule. Većina vrsta riba živi ili u slatkim ili u slanim vodama. Međutim, postoje i vrste koje dio života provode u jezerima, a dio u oceanima, ili pak žive u oceanu ali se razmnožavaju u slatkim vodama i obrnuto. Određene vrste migriraju tisuće kilometara do mjesta gdje će se mrijestiti, dok druge čitav život provedu na određenom području (Nelson 2006).

Pretpostavlja se da na svijetu postoji između 25000 i 40000 vrsta riba, od čega 14000 predstavljaju slatkovodne vrste (Kottelat i Freyhof 2007). S obzirom na to da slatke vode čine samo 0,01 % ukupnog volumena vode na Zemlji, to je iznimno velik broj vrsta. Europska ihtiofauna broji oko 546 autohtonih i 33 alohtone slatkovodne vrste, a takva mala brojnost posljedica je ledenih doba koja su se smjenjivala u prošlosti (Jelić i sur. 2008).

Sve kopnene vode Hrvatske dio su jadranskog i crnomorskog slijeva, koji su međusobno razdijeljeni gorskim lancem Dinarida. Jadranski slijev zauzima oko 32 % površine Hrvatske, a čine ga istarski poluotok, Lika i Dalmacija. Karakteriziraju ga krška polja s ponornicama i bočate vode ušća velikih rijeka. Rijeke su uglavnom kratke i izolirane, a u sušnim razdobljima mnoge potpuno presuše. Podzemni sustavi vodotoka tada ribama omogućavaju preživljavanje.

Hrvatska je jedna od ihtiološki najraznolikijih europskih zemalja, sa oko 150 slatkovodnih vrsta riba (Jelić i sur. 2008). Međutim, od ukupnog broja vrsta, njih 88 nalaze se u Crvenoj knjizi slatkovodnih riba Hrvatske. Među njima je i vrsta kojom se bavi ovaj rad - oštrulja (*Aulopyge huegelii*, Heckel, 1843).

1.2. Razmnožavanje riba

U većine vrsta riba, gonade su parni organi pa kod mužjaka nalazimo po dva sjemenika, a kod ženki po dva jajnika. Oslobođanje jaja i njihova oplodnja u riba se naziva mrijest. Ovisno o vrsti, oplodnja može biti unutarnja i vanjska. Prilikom vanjske oplodnje ženke ispuštaju jaja, a

mužjaci ih oploduju oslobađajući spermu preko jajašaca. Jaja većine slatkovodnih riba su adhezivna te pristanju na razne površine u vodi (stijene, biljke).

Sazrijevanje i mrijest kontrolirani su hormonima, prehranom ženke i ekološkim (vanjskim) faktorima (Miller i Kendall 2009; Crim i Glebe 1990). Dok neke vrste riba brinu o potomstvu, druge stvaraju mnogo jajašaca te ih ostavljaju bez obzira na predatore (Nelson 2006).

Većina vrsti riba izbacuje sva jaja odjednom, kod njih su sva jaja u pojedinoj ženki u istoj fazi razvoja. Neke vrste su "multiple spawners", odnosno razmnožavaju se porciono. Takve jedinke izbacuju jaja više puta godišnje. U njihovim jajnicima moguće je vidjeti i nezrela i zrela jaja u isto vrijeme (FishBase 2016; Blazer 2002).

Spermatogeneza se kod većine riba odvija u funkcionalnim kuglastim nakupinama, nazvanim spermatociste, u kojima se nalaze zametne stanice obavijene Sertolijevim stanicama. Uloge Sertolijevih stanica su potpora, zaštita i prehrana spermija u razvoju (Yoshida 2016). Proces spermatogeneze započinje diobom spermatogonija, koje se razvijaju iz zametnih stanica epitela sjemenika. Mitotskim diobama spermatogonija nastaju spermatocite, koje će proći kroz mejotičke diobe da bi nastale spermatide i spermiji. Iz epitela jajnika na jednak način će se iz oogonija razviti oocite i jajne stanice. Oogeneza završava jednom jajnom stanicom, dok spermatogenezom nastaju četiri spermija (Mumford i sur. 2007).

U literaturi se mogu pronaći različiti podaci o mrijestu oštrulje. Kottelat i Freyhof (2007) navode da je najpovoljnija temperatura vode za mrijest ove vrste 17 °C, a odvija se u plićim dijelovima rijeka i jezera. Rüdiger i Rüdiger (2002) su u laboratorijskim uvjetima uočili da mrijest počinje pri 20 °C. Freyhof (1997) je promatrajući oštrulje u akvariju uočio da mrijest počinje u travnju, kada je temperatura vode iznad 12 °C. Mužjaci su tokom mrijesta svjetlije obojeni, a po tijelu dobivaju tamnije mrlje. Za vrijeme mrijesta, mužjak pliva uz ženku dok ona traži prikladno mjesto za odlaganje jaja, a to su najčešće pukotine i udubljenja između korijenja biljaka (Mrakovčić i sur. 2006). Jedan ili više mužjaka prate ženku tokom cijelog perioda mrijesta, pri čemu jedan drugog odguruju. Ženka provjerava pukotine ustima i leglicom, a kada nađe odgovarajuće mjesto, leglicom polaže jaja u pukotinu. Jedan od mužjaka tada se prisloni uz ženku i oslobađa spermu (slika 1). Oplodnja je vanjska, a odrasli ne brinu za potomstvo. Ženka odmah započinje proces traženja novih pukotina. Krajem srpnja mrijest postaje sve rjeđi (Freyhof 1997). Pri temperaturi od 17 °C, oplodena jaja izlegu se u roku 14 dana. Ličinke nisu pigmentirane i duge su do 6,5 mm, a već četiri dana nakon izlegnuća slobodno plivaju. U kolovozu završava preobrazba u mlade ribe te oštrulje dosežu veličinu od oko 30 mm. Već u jesen iste godine, primijećeno je zanimanje mužjaka za ženke te se može zaključiti da mužjaci dosežu spolnu zrelost ranije od ženki (Freyhof 1997).



Slika 1: Mrijest oštrulja (preuzeto iz Freyhof 1997)

1.3. Sistematika oštrulje

Prikazana je sistematika vrste *Aulopyge huegelii* Heckel, 1843:

Carstvo: Animalia (životinje)

Koljeno: Chordata (svitkovci)

Potkoljeno: Vertebrata (kralješnjaci)

Razred: Actinopterygii (zrakoperke)

Red: Cypriniformes

Porodica: Cyprinidae (šaranke)

Rod: *Aulopyge*

Oštrulja pripada porodici Cyprinidae (šaranke) te je jedini predstavnik roda *Aulopyge*. Od ostalih skupina riba, vrste koje pripadaju ovoj porodici (kao i čitavom redu Cypriniformes) razlikuju se po tome što nemaju zube u čeljustima, ali imaju ždrijelne zube kojima usitnjuju hranu trljajući je o nastavak na zatiljnom dijelu lubanje (Kottelat i Freyhof 2007). Red Cypriniformes čini šest porodica, sa oko 3268 vrsta riba. Najveća raznolikost vidljiva je u Jugoistočnoj Aziji, dok u Australiji i Južnoj Americi nisu prisutne vrste ovog reda. Većina vrsta reda Cypriniformes nema

masnu peraju, a u leđnoj i podrepnoj peraji obično imaju bodljaste šipčice (Nelson 2006). Najbrojnija vrstama je porodica Cyprinidae (oko 2100 vrsta). Vrste iz porodice Cyprinidae rasprostranjene su diljem svijeta, izuzev već spomenute Australije i Južne Amerike te Madagaskara i Novog Zelanda (Kottelat i Freyhof 2007). Srodstveni odnosi unutar ove porodice još nisu u potpunosti razjašnjeni.

1.4. Opće karakteristike oštrulje

Tijelo oštrulje je žutosive boje, izduženo i bez ljuski, a duljina tijela kreće se u prosjeku od 10 do 20 cm (Ćaleta i sur. 2015). Glava je uska, izdužena i jako zašiljena, a usta okružuju dva para kratkih brkova. U području bočne pruge, na leđima, glavi i perajama, vidljive su sitne crnosmeđe mrlje. Bočna pruga je valovita. Sve peraje su žučkaste, a u leđnoj peraji istaknuta je jedna tvrda bodlja, prema kojoj je vrsta i dobila narodno ime oštrulja (HDBI 2016). Visina tijela ženki veća je od visine tijela mužjaka, pri čemu je dorzalna strana tijela ženki od baze glave do leđne peraje lagano zakrivljena (Seeley 1886). Spol ove vrste lako se može odrediti prema vanjskim karakteristikama, jer je kod ženki vidljiva cjevasta leglica za jajašca, sjedinjena s prvom šipčicom podrepne peraje.

Ova slatkovodna vrsta je bentopelagička, odnosno obitava na dnu i u stupcu vode (FishBase 2016). Pretpostavlja se da u jesenskim razdobljima migrira u podzemne vode, a u proljeće se vraća u nadzemne tokove (Mrakovčić i sur. 2006). Tijelo bez ljuski i dobro podnošenje nedostatka hrane, prilagodbe su na podzemni način života. Oštrulje se hrane uglavnom algama, zooplanktonom, vodenim kukcima, ličinkama i drugim beskralješnjacima (HDBI 2016).

1.4.1. Područje rasprostranjenosti oštrulje

Oštrulja naseljava vodotoke s bržom i čistom vodom te jezera i akumulacije na tim vodama (HDBI 2016). Ova vrsta je endem jadranskog slijeva, živi u krškim rijekama i jezerima Hrvatske te Bosne i Hercegovine. U Hrvatskoj se može pronaći u rijekama Cetini, Krki i Čikoli (slika 2). U Bosni i Hercegovini nastanjuje ponornice i jezera Duvanjskog, Livanjskog i Glamočkog polja te Blidinjsko i Šatorsko jezero (Mrakovčić i sur. 2006). Šatorsko jezero je potvrđeno kao prvi lokalitet crnomorskog slijeva u kojem možemo naći oštrulju. Pretpostavlja se da je ona tamo unesena slučajno, tijekom sedamdesetih i osamdesetih godina 20. st., za vrijeme unošenja pastrva (Delić i sur. 2005).



Slika 2: Područje rasprostranjenosti oštrulje u Hrvatskoj

1.4.2. Ugroženost oštrulje

Oštrulja se 1996. godine nalazila na Crvenom popisu IUCN-a (International Union for Conservation of Nature), kao osjetljiva vrsta (VU), a 2006. godine svrstana je u kategoriju EN (ugrožena vrsta) (Crivelli 2006).

Slatkovodni ekosustavi izloženi su velikom pritisku od strane čovjeka pa je tako na rijekama Krki, Cetini i Čikoli provedena intenzivna regulacija vodotoka. Time je promijenjen prirodni vodni režim te su staništa oštrulje smanjena ili čak posve nestala (Mrakovčić i sur. 2006). U kategoriju ugrožene vrste (EN) oštrulja je svrstana na temelju kontinuiranog smanjenja broja odraslih jedinki, smanjenja kvalitete staništa te rascjepkanog areala (Mrakovčić i sur 2006). Onečišćenje rijeka te velike varijacije u vodostaju također utječu na populaciju ove vrste (Mrakovčić i Mišetić 1990).

Iako se oštrulja u pojedinim područjima prilagodila novonastalim uvjetima, teško je predvidjeti dugoročne posljedice koje će te promjene imati na populaciju.

1.5. Cilj istraživanja

S obzirom da je oštrulja endemska riba Jadranskog slijeva, sa staništem koje je pod velikim utjecajem ljudskih aktivnosti te je svrstana u ugrožene vrste, za planiranje primjerene zaštite ključni su podaci o biološkim karakteristikama vrste, prikupljeni znanstvenim istraživanjima.

Kako bi se istražile dosad nepoznate reproduktivne karakteristike oštrulje, u ovom radu korištena je kombinacija morfometrijskih i histomorfometrijskih mjerenja te gonadosomatskog indeksa, pri čemu će se moći odrediti:

- odnos spolova oštrulja;
- fekunditet;
- sezonski ciklusi oštrulja (vrijeme i trajanje mrijesta).

Rezultati ovog rada dat će uvid u osnovne reproduktivne značajke oštrulje, stoga mogu biti primjenjivi u planiranju znanstveno utemeljene zaštite za ovu vrstu u regionalnim krškim rijekama i jezerima.

2. MATERIJAL I METODE

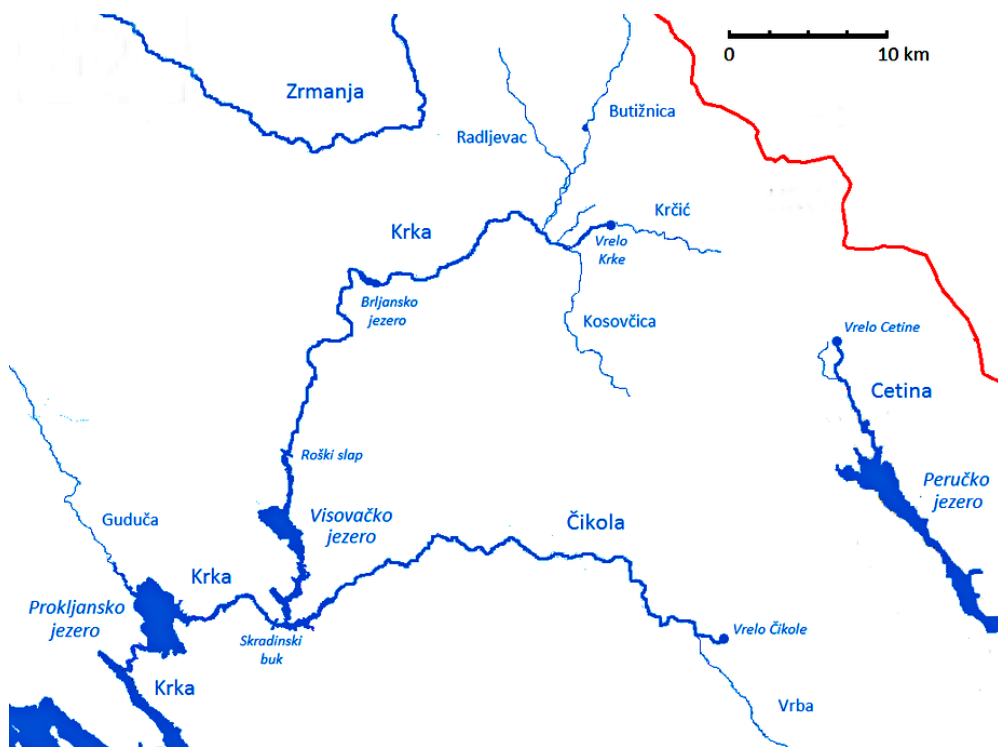
2.1. Područje istraživanja

Jedinke su sakupljene u jezerskim sustavima na rijekama Krki i Čikoli. U rijeci Krki jedinke su sakupljane na lokalitetima Brljan, Roški slap i Visovac, a u rijeci Čikoli na lokalitetima Torak i Krnića uvala (slika 3). Krka je druga po veličini rijeka jadranskog slijeva, dužine 72,5 km (Mrakovčić i sur. 2006), od čega 49 km čini slatkovodni, a 23,5 km bočati tok (Dinarsko gorje 2016). Izvor Krke nalazi se u blizini Knina, podno Krčića. Na Krki nalazimo sedam slapova i dva jezera, Visovačko i Prokljansko. Kod Šibenika rijeka Krka utječe u more. Umjetnim putem nastalo je samo jezero Brljan, a nalazi se 19 km nizvodno od izvora, dok se nešto niže od njega nalazi Roški slap, visine 25,5 m (Dinarsko gorje 2016). Veći dio rijeke Krke proglašen je nacionalnim parkom radi brojnih slapova, brzaca, podvodnih izvora te prekrasnih sedrenih barijera. Unatoč tome, Krka je i dalje izložena štetnom antropogenom utjecaju. Postojeće hidroelektrane nepovoljno utječu na populacije riba, kao i ispuštanje otpadnih voda obližnjih gradova. Polovica utvrđenih vrsta riba koje žive u rijeci Krki endemske su vrste te na njih najviše utječu promjene različitih ekoloških čimbenika (Mrakovčić i sur. 2006).

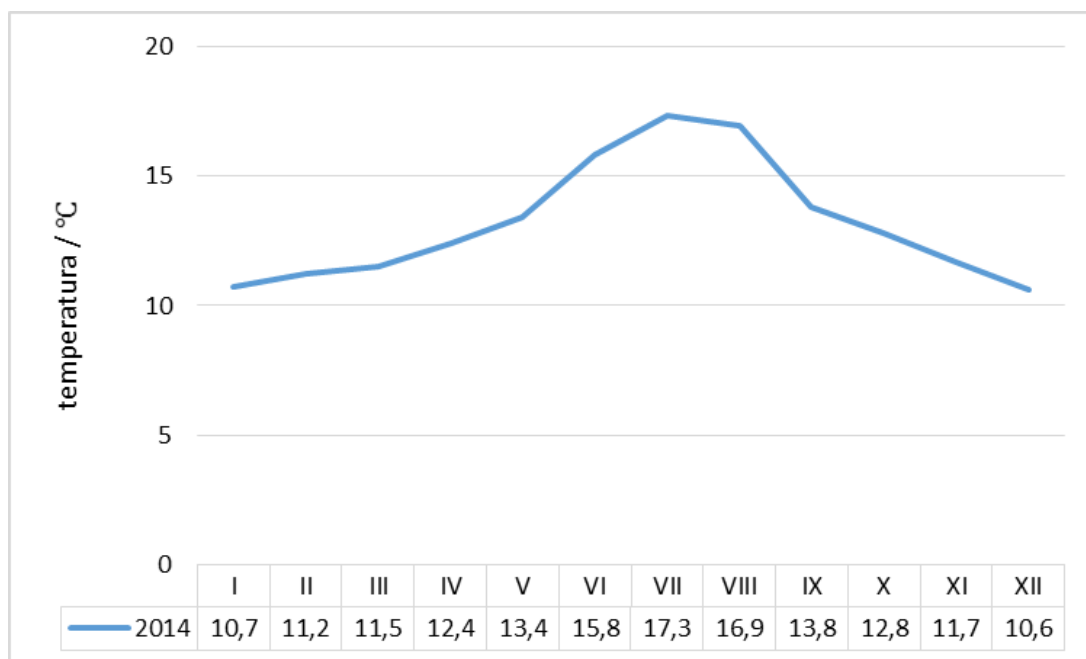
Najveća pritoka Krke je Čikola, duljine 37,8 km. Čikola izvire u podnožju planine Svilaje, kod sela Čavoglave. Dio Čikole dužine oko 1 km, počevši od Drniša, zaštićen je kao značajni krajobraz, a odlikuje se vrlo dubokim kanjonom koji je izniman geomorfološki fenomen. Uz lijevu obalu Čikole, na početku ušća, nalazi se jezero Torak, koje je zapravo krška jama dubine 47 m. Ušće Čikole, kod Skradinskog buka, dio je Nacionalnog parka Krka (NP Krka 2016).

Vodostaj Čikole je vrlo promjenjiv; za vlažnih zima obiluje vodom, a ljeti je vodostaj jako nizak zbog suše i navodnjavanja zemljišta oko njenog srednjeg toka (Dinarsko gorje 2016). Prema podacima DHMZ-a (izmjereno na postaji Ključice), za vrijeme istraživanja, korito Čikole je bilo potpuno suho dio lipnja, čitav srpanj i kolovoz te dio rujna. Ostatak godine vodostaj je bio jako nizak, između 17 i 85 cm. Vodostaj rijeke Krke kroz godinu je nešto stabilniji, ali ipak dosta nizak u ljetnim mjesecima. Prema podacima DHMZ-a, srednji godišnji vodostaj, izmjeren na postaji NP Krka, iznosio je 126 cm, a na postaji Roški slap 93 cm.

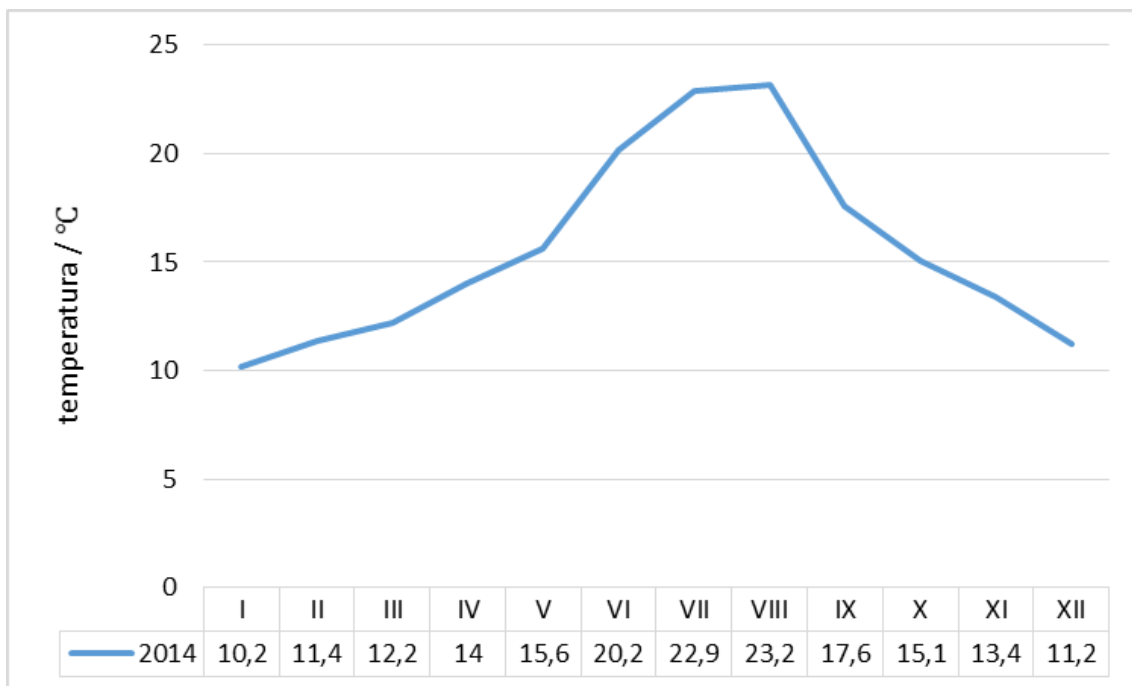
Srednja godišnja temperatura vode za vrijeme istraživanja, izmjerena na postaji NP Krka, iznosila je 15,6 °C, a na postaji Roški slap 13,2 °C. Maksimalna temperatura vode bila je 23,2 °C, a izmjerena je na postaji NP Krka u kolovozu (slika 5). Na postaji Roški slap, maksimalna temperatura vode izmjerena je u srpnju, a iznosila je 17,3 °C (slika 4).



Slika 3: Područje istraživanja



Slika 4: Srednja mjesečna temperatura vode za 2014. godinu, prema podacima DHMZ-a, izmjerena na postaji Roški slap



Slika 5: Srednja mjesečna temperatura vode za 2014. godinu, prema podacima DHMZ-a, izmjerena na postaji NP Krka

2.2. Prikupljanje oštrulja na terenu

Oštrulje su prikupljene metodom elektroribolova (slika 6) u rijeci Čikoli i mrežama različite veličine oka u rijeci Krki, u skladu s dozvolom dobivenom od Ministarstva zaštite okoliša i prirode (KLASA: UP/I-612-07/13-48/98 i KLASA: UP/I-612-07/12-33/103).

Pri elektroribolovu je korišten ledni elektroribolovni agregat Hans Grassl snage 2,5 kW (model IG-200-1). Ledni agregati često se koriste za sakupljanje jedinki u manjim rijekama i potocima, kao što je slučaj u Čikoli. Uranjanjem dvije elektrode (anode i katode) u vodu, između njih se stvara električno polje koje utječe na živčani sustav riba pa se omamljene ribe lako skupljaju ručnom mrežom (Reynolds 1996).

U rijeci Krki uzorci su skupljani u dubljim dijelovima jezerskih sustava gdje lov elektroagregatom nije bio moguć, s obzirom na njegovo ograničeno polje djelovanja. Oštrulji većinom borave uz dno ili u stupcu vode, zbog toga su za lov korištene mreže. Mreže su imale veličine oka 13, 15, 18 i 20 mm. Duljina mreže iznosila je 30 m, a širina 3 m. Mreže su navečer postavljene u stupac vode, a sljedeće jutro su uklonjene. Korištene su takozvane škržne mreže, koje su rađene od najlona pa su slabo vidljive ribama, stoga se one lako u njih zapetljaju. Na gornji rub

mreže učvršćeni su plovci koji drže dio mreže na površini, a pri dnu su olovni utezi, koji drže mrežu raširenom u stupcu vode. Lov mrežama omogućuje prikupljanje riba koje žive na dubinama i do 100 m, a idealna je metoda za lov u jezerima i sporijim rijekama (Hubert i sur 2012).

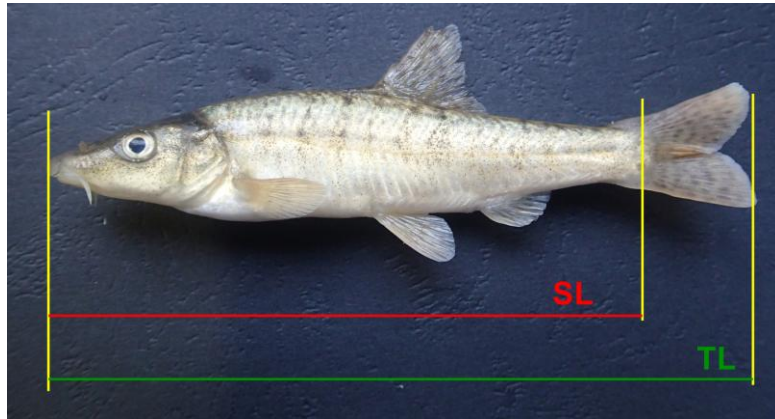
Terenski rad se odvijao od prosinca 2013. do siječnja 2015. godine, a ukupno je prikupljeno 86 jedinki. Jedinke su nakon ulova usmrćene izlaganjem letalnoj dozi anestetika MS222 (etil 3-aminobenzoat) te zaleđene i čuvane na Biološkom odsjeku PMF-a u Zagrebu do daljnje obrade.



Slika 6: Prikupljanje oštrulja na terenu metodom elektroribolova

2.3. Morfometrijska mjerenja jedinki i izračun gonadosomatskog indeksa

Nakon odležavanja, jedinkama je izmjerena ukupna masa (m) pomoću vage Acculab VI-4800. Određena je i ukupna (TL) i standardna (SL) duljina tijela, pomoću digitalne mjerke Mitutoyo CD-6 CS s preciznošću od 0,01 mm. Ukupna duljina tijela mjerena je od vrha gubice do kraja repne peraje, a standardna duljina od vrha gubice do baze repne peraje (slika 7).



Slika 7: Standardna (SL) i ukupna (TL) duljina tijela oštrulje

Kako bi se analizirao omjer spolova, jedinkama je određen spol prema vanjskim karakteristikama. Jedinke koje su imale vidljivu cjevastu leglicu za jajašca, koja je nastala spajanjem urogenitalne kvržice i prednjeg kraja podrepne peraje (Čaleta i sur. 2015), su određene kao ženke, a ostale jedinke svrstane su u muški spol.

Da bi se dodatno istražili sezonski ciklusi oštrulja (vrijeme i trajanje mrijesta), uzorkovane su i analizirane gonade oba spola. Tijekom obrade, jedinke su otvorene uzdužnim rezom od analnog otvora do glave te su im izolirane gonade. Gonade su fiksirane u 10%-tnom formaldehidu, a zatim u 70%-tnom etanolu. Prilikom daljnje obrade, gonade su prenesene na papirnati ručnik da bi se upila suvišna tekućina, a zatim im je izmjerena masa pomoću analitičke vage Ohaus Adventurer, s točnošću od 0,001 g. Izračunat je gonadosomatski indeks (GSI) prema formuli:

$$\text{GSI} [\%] = \left(\frac{m_G}{m} \right) \times 100$$

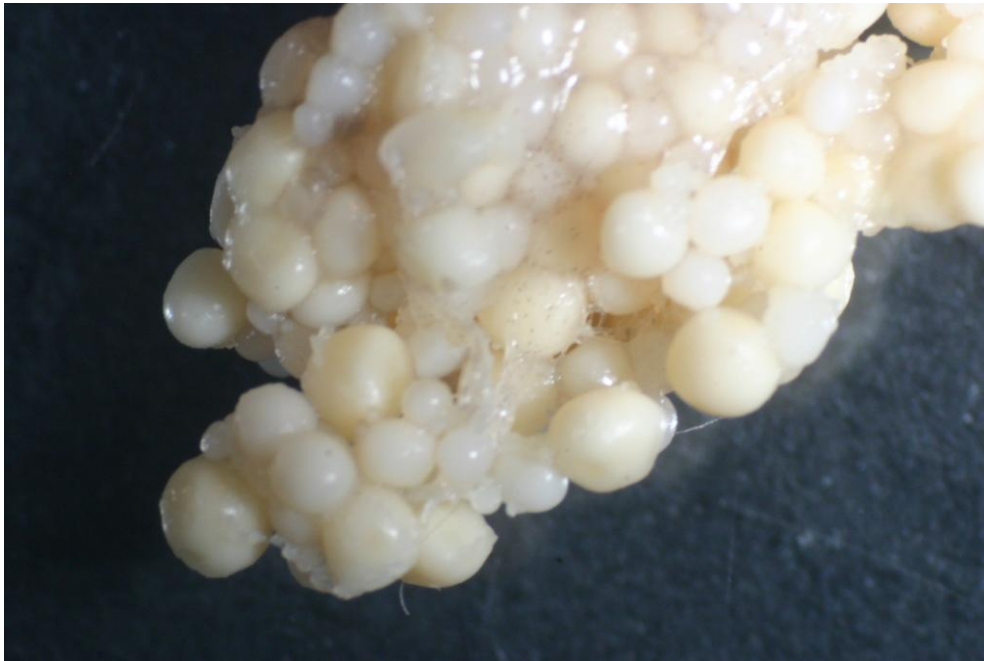
gdje je m_G = masa gonada, a m = ukupna masa ribe. Pomoću gonadosomatskog indeksa procjenjuje se spolna zrelost jedinke, budući da on pokazuje postotak tjelesne mase koji čine gonade.

Gonade su se dalje obrađivale ovisno o spolu jedinke.

2.4. Izračun fekunditeta i sezonskog ciklusa ženki oštrulja

Kod ženki ulovljenih van sezone mrijesta, iz svakog jajnika pojedine ženke izdvojeno je po 100 jaja kojima je izmjerena promjer pod lupom Zeiss Stremi 2000-C. Zabilježena je maksimalna i minimalna veličina jaja te izračunata prosječna veličina jaja za svaku ženku.

Jajnici zrelih ženki, koje su ulovljene od ožujka do srpnja (pretpostavljeno vrijeme mrijesta), izdvojeni su da bi se izračunao broj jaja koje pojedina ženka položi tokom jednog polaganja jaja - "batch fecundity", odnosno fekunditet jednog mrijesta. Od svakog jajnika zrele ženke uzeta su tri poduzorka, svaki veličine otprilike 10 % mase jajnika. Svaki poduzorak je izvagan na jednak način kao i cijele gonade, pregledan je pod lupom (slika 8) te su jaja međusobno razdvojena iglicom u manje nakupine, radi lakšeg brojenja i mjerenja.



Slika 8: Pregledavanje dijela jajnika ženke oštrulja pod lupom

Kao zrela jaja uzimana su sva jaja čiji promjer je veći od 1,5 mm (Rüdiger i Rüdiger 2002). Veličina jaja određena je na isti način kao i kod ženki ulovljenih van sezone mrijesta. Broj zrelih jaja u jajniku (batch fecundity, BF) za svaki poduzorak dobiven je prema formuli:

$$BF_{\text{poduzorak}} = \frac{m(\text{jajnika}) \times N(\text{zrelih jaja})_{\text{poduzorak}}}{m(\text{poduzorka})}$$

Izračunata je aritmetička sredina dobivenih rezultata za oba jajnika, prema formuli:

$$BF_{\text{jajnik}} = \frac{\sum (BF_{\text{poduzorak1}} + BF_{\text{poduzorak2}} + BF_{\text{poduzorak3}})}{3}$$

Fekunditet jednog mrijesta pojedine ženke izračunat je prema formuli:

$$BF_{\text{ženka}} = BF_{\text{jajnik 1}} + BF_{\text{jajnik 2}}$$

Na isti način određen je i ukupan broj jaja u jajnicima pojedine zrele ženke.

Izmjerena jaja su svrstana u četiri veličinske kategorije po 0,5 mm te je analizirana njihova sezonska dinamika.

Da bi se potvrdila sezona mrijesta, i usporedila s izračunatim GSI, analizirana je prosječna veličina zrelih jaja prema mjesecima.

2.5. Histomorfometrijska analiza muških gonada

Muške gonade obrađene su histomorfometrijskom analizom trajnih histoloških preparata izrađenih parafinskom tehnikom. Izrada histološkog preparata provodi se u nekoliko faza:

1. Središnji dio gonade, prethodno fiksirane i pohranjene u alkohol, dehidrira se kroz seriju rastućih koncentracija alkohola (70 %-tni alkohol = 48 sati, 80 %-tni alkohol = 1 sat, 96 %-tni alkohol = 1 sat te 100 %-tni alkohol = 2x1 sat), stavlja u kloroform i uklapa u tekući paraplast u termostatu na temperaturi od 60 °C. Tekući paraplast se ulije u papirnate lađice koje služe kao kalup. U njih se tkivo uloži pomoću iglice.

2. Ohlađeni parafinski blokovi se rotacijskim mikrotomom režu na tanke rezove debljine 7 µm (slika 9). Rezovi se kratko stavljaju na vodenu kupelj zagrijanu na 40 °C, izravnavaju se pomoću kista i nanesu na predmetno stakalce prethodno namazano adhezivnim sredstvom glicerinske bjelanjkom.

3. Predmetna stakalca s rezovima se deparafiniraju i rehidriraju u padajućim koncentracijama alkohola i destiliranoj vodi (ksilol = 2x15 min, 100 %-tni alkohol = 5 min, 96 %-tni alkohol = 5 min, 80 %-tni alkohol = 5 min, 70 %-tni alkohol = 5 min, destilirana voda 2x5 min).

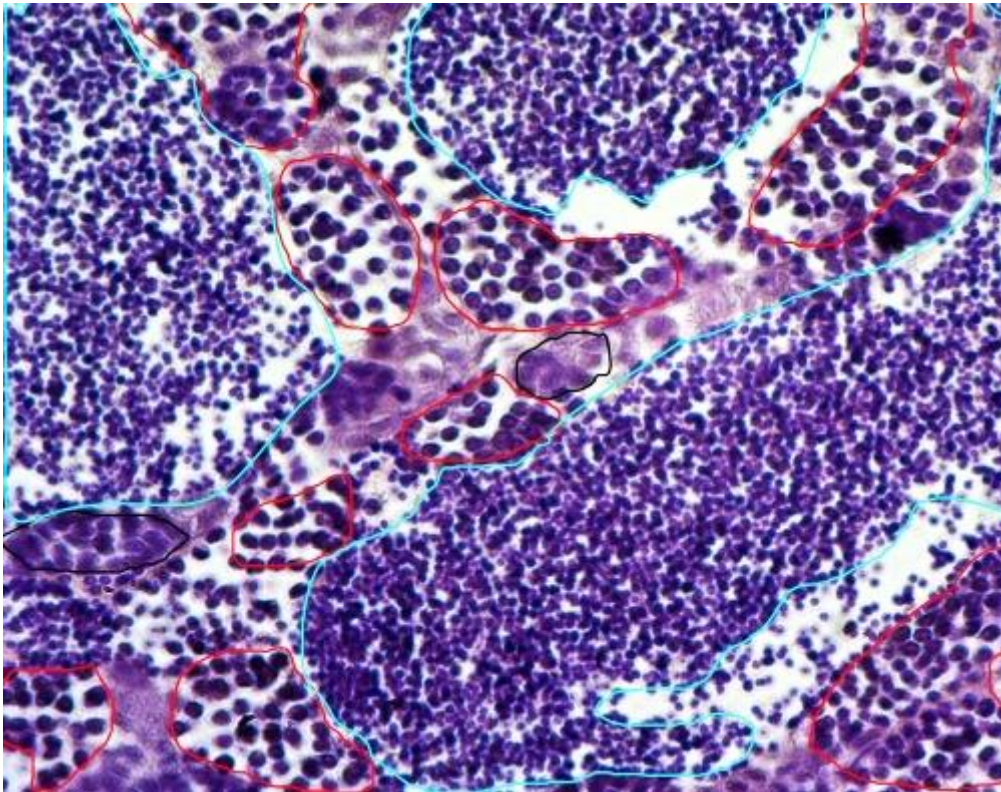
4. Rezovi se bojaju kombinacijom dvije rutinske histološke boje: lužnatim hematoksilinom i kiselom eozinom (hemalaun-eozin, HE). Boje će istaknuti pojedine dijelove tkiva te će preparat biti moguće pregledati svjetlosnim mikroskopom. Hemalaun boji plavoljubičasto bazofilne strukture u stanicama (npr. jezgri), a eozin boji crvenoružičasto acidofilne strukture (npr. citoplazmu). Pri bojenju, predmetnice s uzorcima prolaze kroz sljedeće tekućine: Mayerova otopina (hemalaun) = 7 min, vodovodna voda = 2x10 min, eozin = 2 min, destilirana voda = 2x5 min. Nakon bojenja slijedi

ponovno dehidriranje uzoraka kroz seriju rastućih koncentracija alkohola i ksilol te uklapanje u uklopno sredstvo kanadski balzam.



Slika 9: Rezanje parafinskih blokova s uzorcima tkiva sjemenika oštrulja na rotacijskom mikrotomu

Preparati su promatrani pod svjetlosnim mikroskopom te su identificirani različiti razvojni stadiji spermatogeneze: spermatogonije, spermatocite, spermatide i spermiji. Histološka mjerenja izvedena su pomoću digitalne kamere AxioCam ERc 5s (Zeiss) i programa Zen (verzija 2.0, Zeiss). Pri izradi preparata, za svakog muškaka korišteno je zasebno predmetno stakalce, na koje je nanoseno nekoliko rezova tkiva testisa. Odabrano je pet nasumičnih mjesta u jednom rezu, koja su fotografirana navedenom digitalnom kamerom pod povećanjem x400. Pomoću programa Zen je izmjerena površina koju zauzimaju razvojni stadiji spermatogeneze (spermatogonije, spermatocite, spermatide, spermiji) u pojedinom uzorku (slika 10). Izmjerena je i ukupna površina uzorka te je izračunat udio svakog stadija u analiziranom dijelu tkiva. S obzirom da najrazvijeniji stadiji spermatogeneze (spermatide i spermiji) nisu bili dovoljno oštro razgraničeni u analiziranim tkivima, ove dvije kategorije su zajednički analizirane.



Slika 10: Prikaz mjerenih površina na histološkom preparatu testisa oštrulja

3. REZULTATI

3.1. Analiza populacije po spolu

Ukupno je ulovljeno 86 jedinki, kako je prikazano u tablici 1. U zimskim mjesecima lov oštrulje je otežan, budući da ova vrsta hladnije mjesece preživljava mirujući u dubljim dijelovima jezera ili ulazi u podzemlje. To je vidljivo i iz rezultata dobivenih ovim istraživanjem, budući da u veljači i ožujku nije ulovljena niti jedna jedinka.

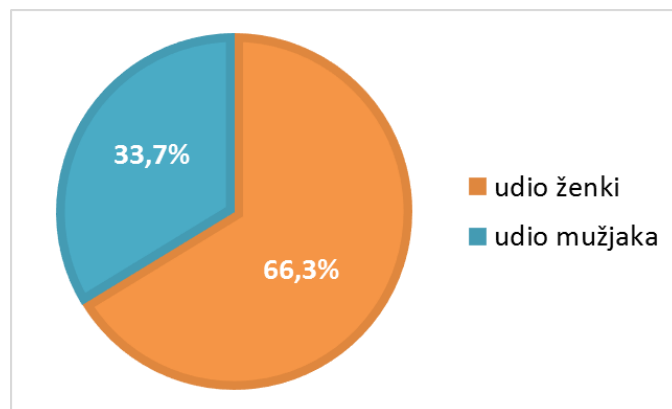
Spol jedinki je određen prema vanjskim karakteristikama (slika 11 i 12). Utvrđeno je da su od ukupnog broja jedinki, njih 57 bile ženke. Njihov udio u ukupnom broju jedinki je 66,3 %, dok je udio mužjaka 33,7 % (slika 13). Zastupljenost mužjaka u uzorku je brojčano 29 jedinki.



Slika 11: Vanjski izgled ženke oštrulje



Slika 12: Vanjski izgled mužjaka oštrulje



Slika 13: Sastav populacije oštrulja po spolu

Kroz godinu je vidljiva brojčana dominantnost ženki (tablica 1), ali hi-kvadrat test pokazao je da ukupan omjer spolova ne odstupa značajno od očekivanog omjera 1:1 ($\chi^2 = 8,49563$, $p > 0,05$).

Tablica 1: Omjer spolova jedinki oštrulja tijekom istraživanja

mjesec	broj jedinki		omjer spolova
	mužjaci	ženke	
siječanj	4	14	1:3,5
veljača	0	0	0
ožujak	0	0	0
travanj	1	3	1:3
svibanj	4	3	1:0,75
lipanj	6	11	1:1,83
srpanj	2	2	1:1
kolovoz	3	8	1:2,66
rujan	2	8	1:4
listopad	3	6	1:2
studeni	1	0	1:0
prosinac	3	2	1:0,66
ukupno	29	57	1:1,97

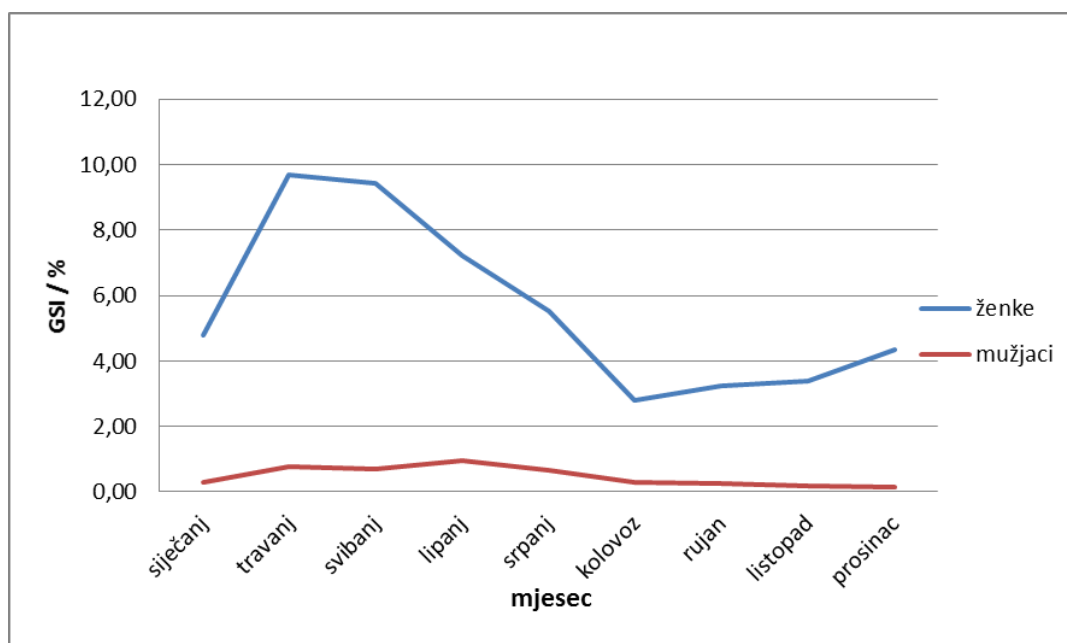
Standardne duljine tijela mužjaka su u rasponu od 64,36 mm do 133 mm, a prosječna standardna duljina tijela svih mužjaka iznosi 103,93 mm. Raspon standardnih duljina tijela ženki je od 95,34 mm do 134,35 mm, a prosječna standardna duljina tijela svih ženki iznosi 112,71 mm. Najveća izmjerena masa tijela za mužjaka je 47,60 g, a za ženku 53,74 g.

Ženke su raspoređene u pet veličinskih razreda, po 10 mm. Prevladavaju ženke standardne duljine tijela od 111 mm do 120 mm (18 jedinki, tj. 31,6 %). Mužjaci su raspoređeni u osam

veliĉinskih razreda, takoĊer po 10 mm, a prevladavaju muŹjaci standardne duljine tijela od 100 mm do 109 mm (13 jedinki, tj. 44,8 %).

3.2. Gonadosomatski indeks

Vrijednosti gonadosomatskog indeksa (GSI) izraĉunate su po mjesecima za muŹjake i Źenke (slika 14), a dobivene su na temelju mase gonada i mase tijela pojedine odrasle ribe.

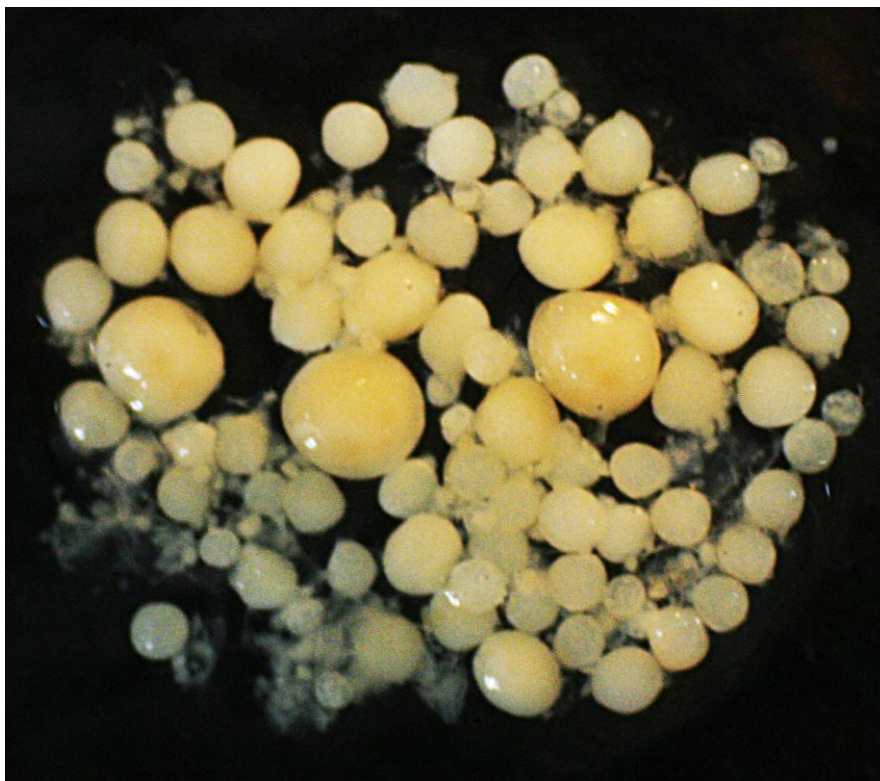


Slika 14: Kretanje srednjih vrijednosti gonadosomatskog indeksa za muŹjake i Źenke oŹtrulja tijekom istraŹivanja

Srednje vrijednosti gonadosomatskog indeksa za Źenke u laganom su porastu od kolovoza do travnja, kada doseŹu maksimum. Nakon toga vrijednosti postepeno opadaju. Najveĉa vrijednost za Źenke zabiljeŹena je u lipnju, a iznosi 14,86 %, dok je najmanja zabiljeŹena u kolovozu, a iznosi 2,35 %. Vrijednosti GSI za muŹjake kreĉu se kao i kod Źenki, ali razlika izmeĊu rasta i pada nije toliko istaknuta. Naime, najveĉa vrijednost gonadosomatskog indeksa za muŹjake iznosi 1,49 %, zabiljeŹena u lipnju, a najmanja vrijednost iznosi 0,03 %, zabiljeŹena u rujnu.

3.3. Veličina jaja ženki oštrulja

Promjeri jaja su izmjereni za 38 ženki koje su ulovljene van pretpostavljene sezone mrijesta te za 19 ženki ulovljenih u sezoni mrijesta. Jaja su svrstana u četiri veličinska razreda, a samo jaja promjera većeg od 1,5 mm svrstana su u najveći razred, odnosno smatraju se zrelim jajima. Samo kod ženki ulovljenih od travnja do srpnja pronađena su zrela jaja u jajnicima, što potvrđuje pretpostavljeno vrijeme mrijesta. Veličina jaja kreće se od 0,19 mm do 2,19 mm (slika 15). Najveća prosječna veličina jaja iznosila je 1,27 mm, dok je najmanja prosječna veličina jaja iznosila 0,57 mm.

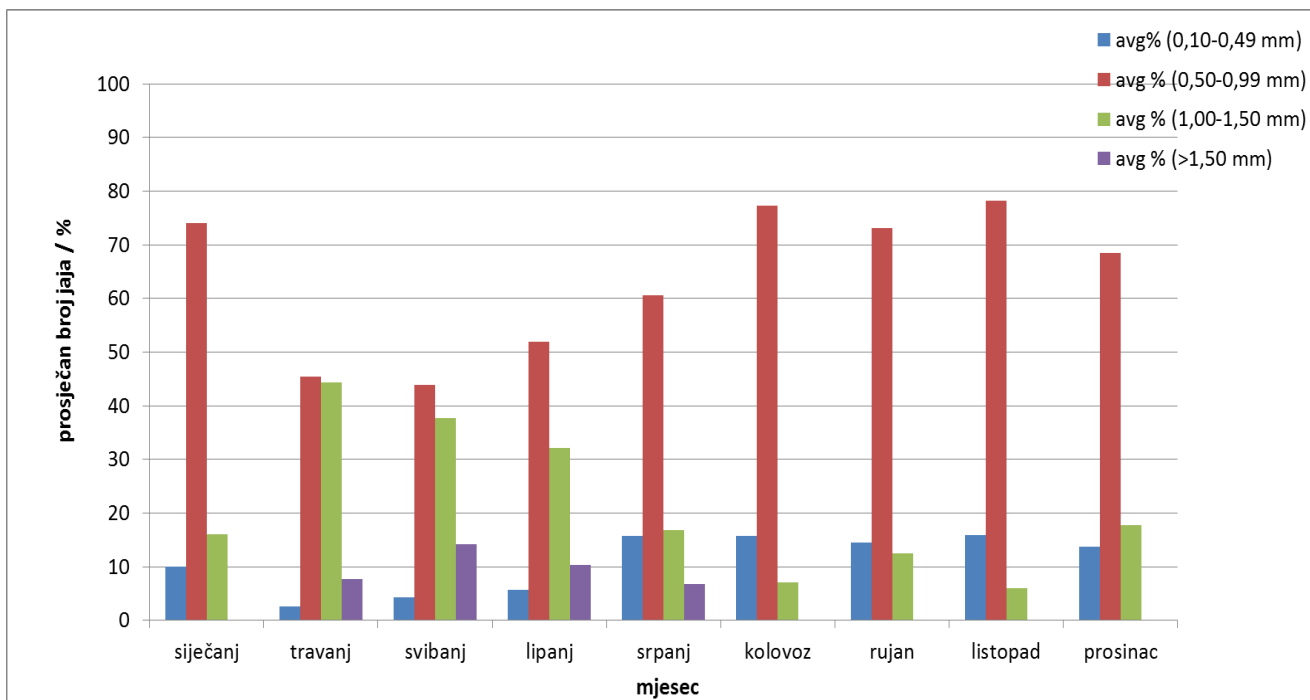


Slika 15: Jaja oštrulje različitih veličina, izmjerena pod lupom

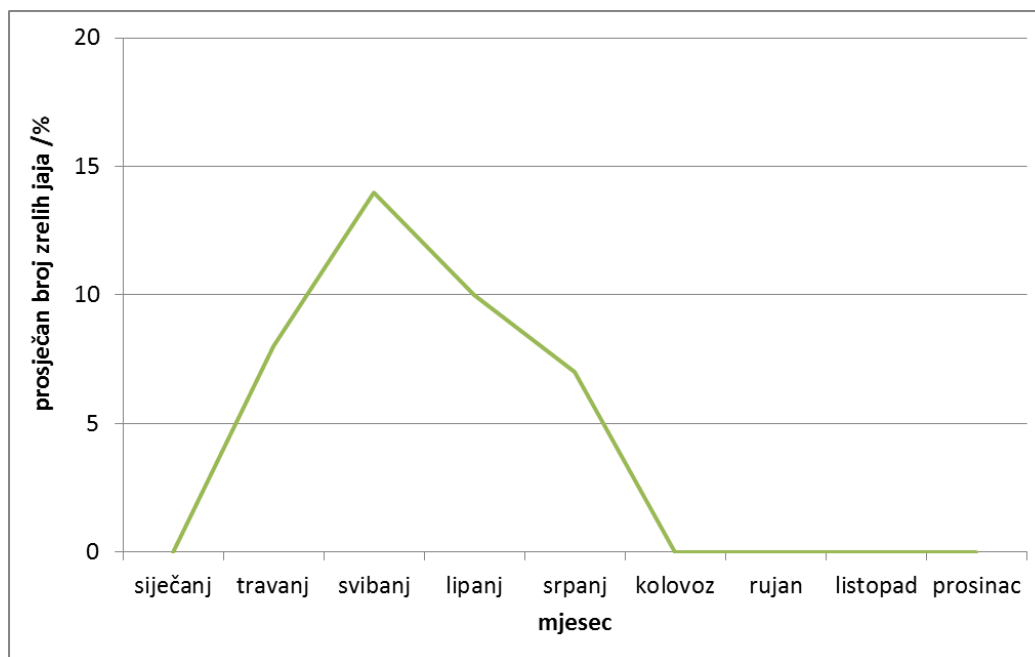
U razdoblju od kolovoza do siječnja u jajnicima ženki prevladavaju jaja promjera od 0,50 do 0,99 mm (slika 16). Od ukupnog broja izbrojenih jaja, jaja ovog veličinskog razreda zauzimaju (ovisno o mjesecu) udio od 73 % do 78 %.

U razdoblju od travnja do srpnja, u jajnicima prevladavaju jaja promjera od 0,5 do 0,99 mm te jaja promjera od 1,00 do 1,50 mm. Jaja ovih dvaju veličinskih razreda imaju podjednake udjele u jajnicima, a skupa čine udio od 78 % do 90 %. U ovom razdoblju pronađena su i zrela jaja (promjera većeg od 1,5 mm), koja zauzimaju udio od 7 % do 14 % u ukupnom broju izbrojenih jaja.

Povećanje udjela zrelih jaja u jajnicima u skladu je s kretanjem srednjih vrijednosti gonadosomatskog indeksa (slika 17).



Slika 16: Prosječan broj jaja određenog veličinskog razreda tijekom istraživanja provedenog na oštruljama



Slika 17: Sezonska dinamika udjela zrelih jaja (promjer jaja > 1,5 mm) tijekom istraživanja ženki oštrulja

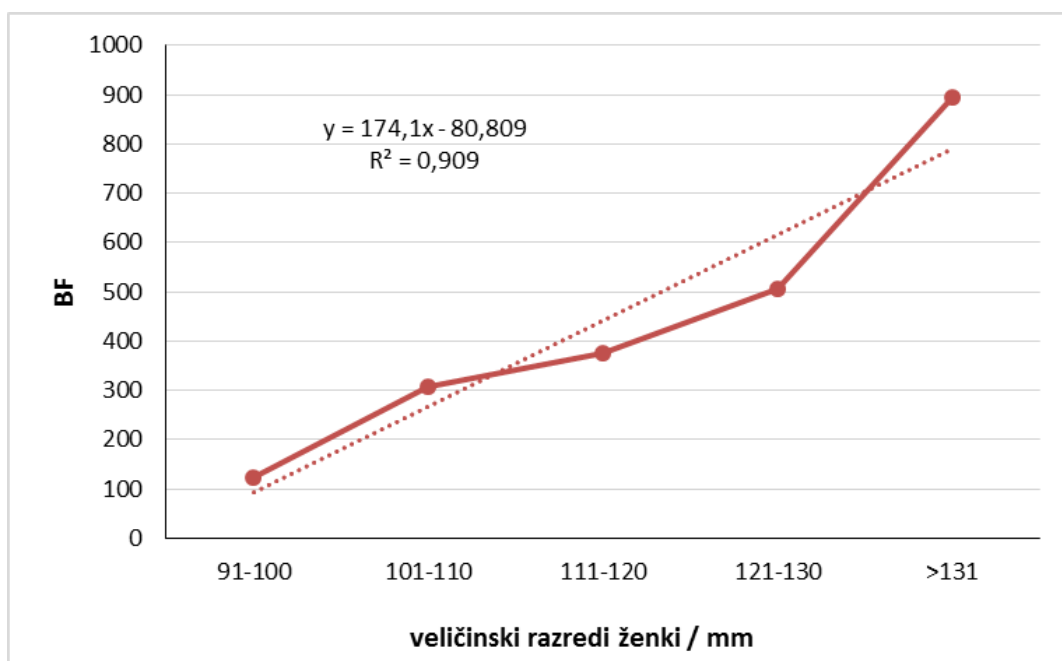
3.4. Fekunditet oštrulja

Fekunditet jednog mrijesta, odnosno broj jaja koje ženka položi tokom jednog mrijesta, izračunat je za 19 zrelih ženki, ulovljenih unutar utvrđene sezone mrijesta.

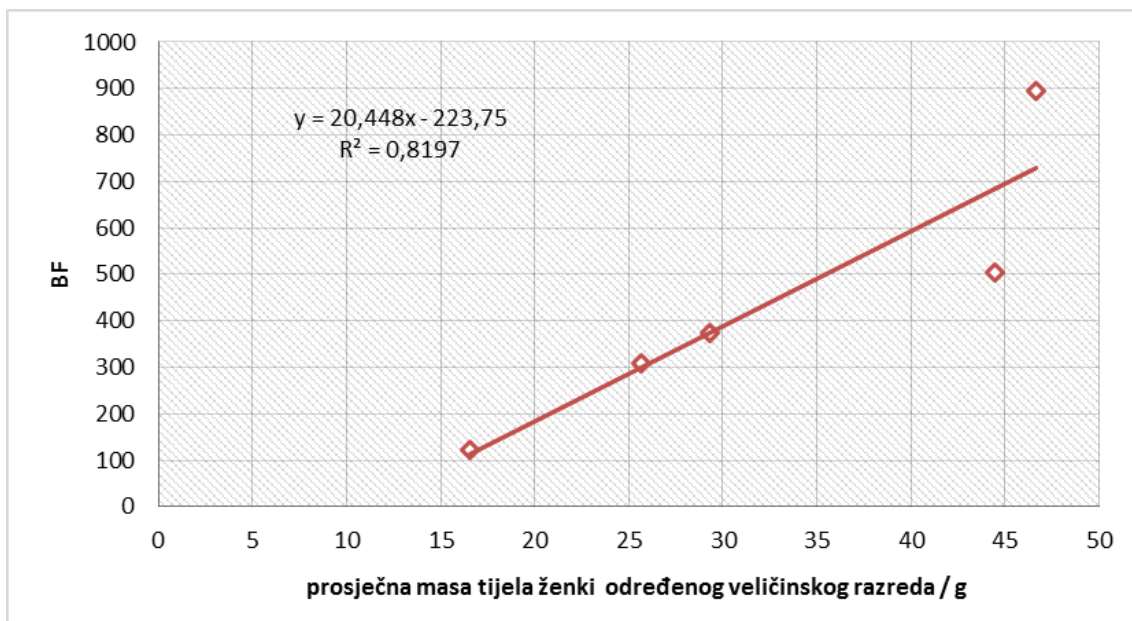
Mase zrelih ženki bile su u rasponu od 16,50 g do 48,00 g, a ukupna masa gonada u rasponu od 0,878 g do 6,700 g. Prosječan broj jaja u jajniku je iznosio od 252 do 5645 jaja, odnosno od 18 do 389 jaja po gramu mase tijela. Najveći ukupan broj jaja (10520 jaja) zabilježen je za ženku standardne duljine tijela 132 mm i mase tijela 48 g, ulovljenu u lipnju.

Jedna zrela ženka u prosjeku ima od 4 do 26 zrelih jaja po gramu mase tijela. Fekunditet jednog mrijesta (BF), odnosno broj zrelih jaja u gonadama pojedine zrele ženke iznosio je od 68 do 1154 jaja. Najveći BF (1154 zrelih jaja) zabilježen je kod ženke ulovljene u lipnju (SL = 131,3 mm, m = 45,1 g).

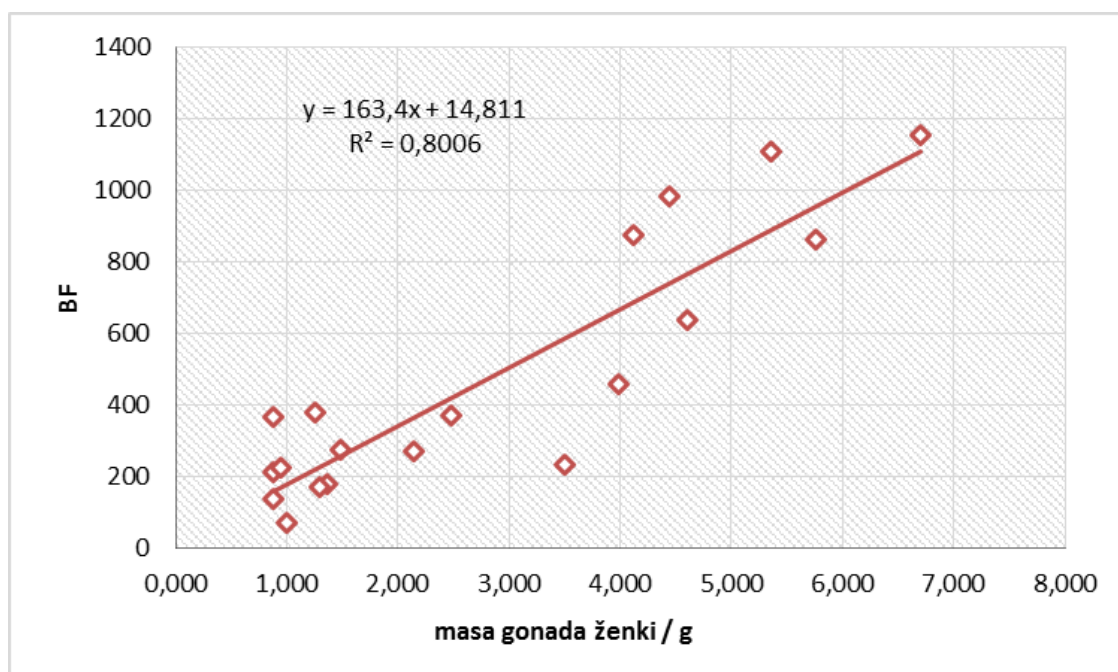
Rezultati pokazuju porast fekunditeta jednog mrijesta s porastom ukupne mase jedinke, standardne duljine jedinke te mase gonada jedinke (slike 18, 19 i 20).



Slika 18: Odnos fekunditeta jednog mrijesta (BF) i standardne duljine (SL) ženki oštrulja



Slika 19: Odnos fekunditeta jednog mrijesta (BF) i ukupne mase (m) ženki



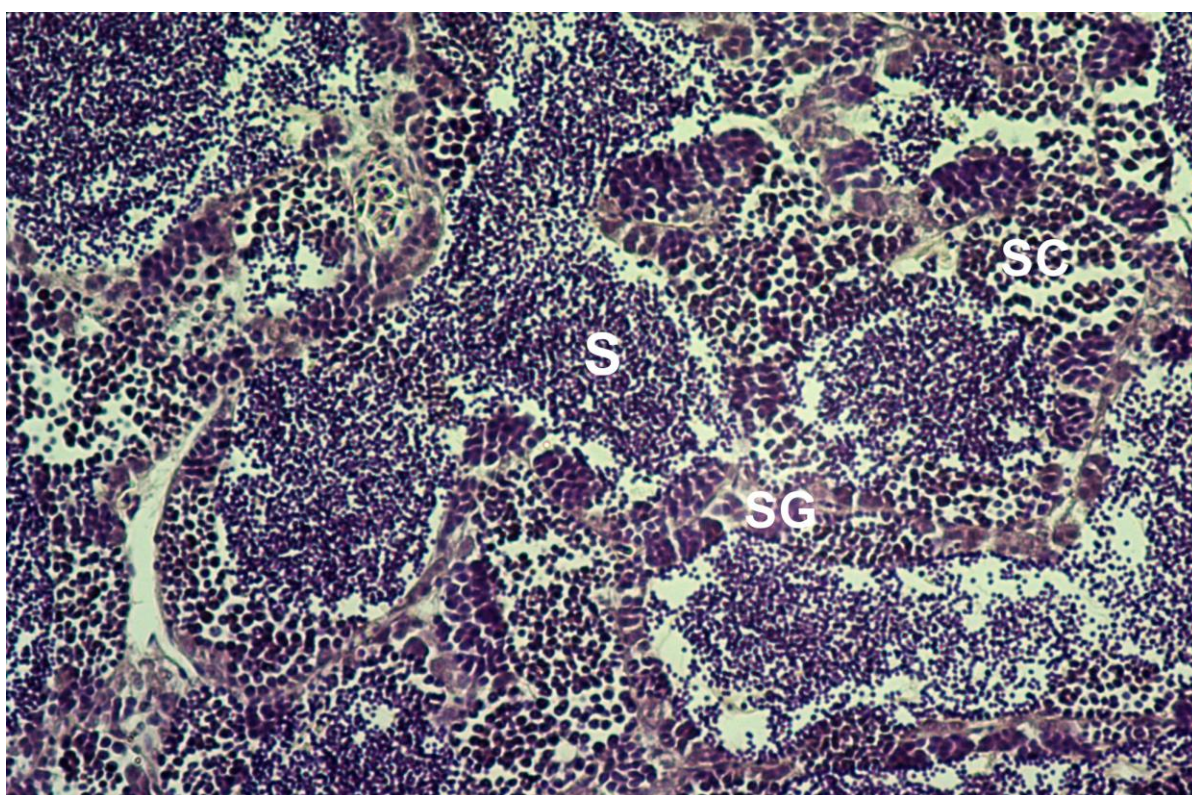
Slika 20: Odnos fekunditeta jednog mrijesta (BF) i mase gonada ženki

Podaci o temperaturi vode za vrijeme istraživanja dobiveni su od Državnog hidrometeorološkog zavoda, za postaje najbliže istraživanim lokalitetima. Rezultati pokazuju da je temperatura važan čimbenik u razmnožavanju ove vrste, odnosno da razmnožavanje oštrulje započinje već pri temperaturi vode od oko 12 °C. Naime, na postaji Roški slap, prosječna temperatura vode u travnju bila je 12,4 °C, dok je prosječna temperatura na postaji NP Krka iznosila 14,0 °C.

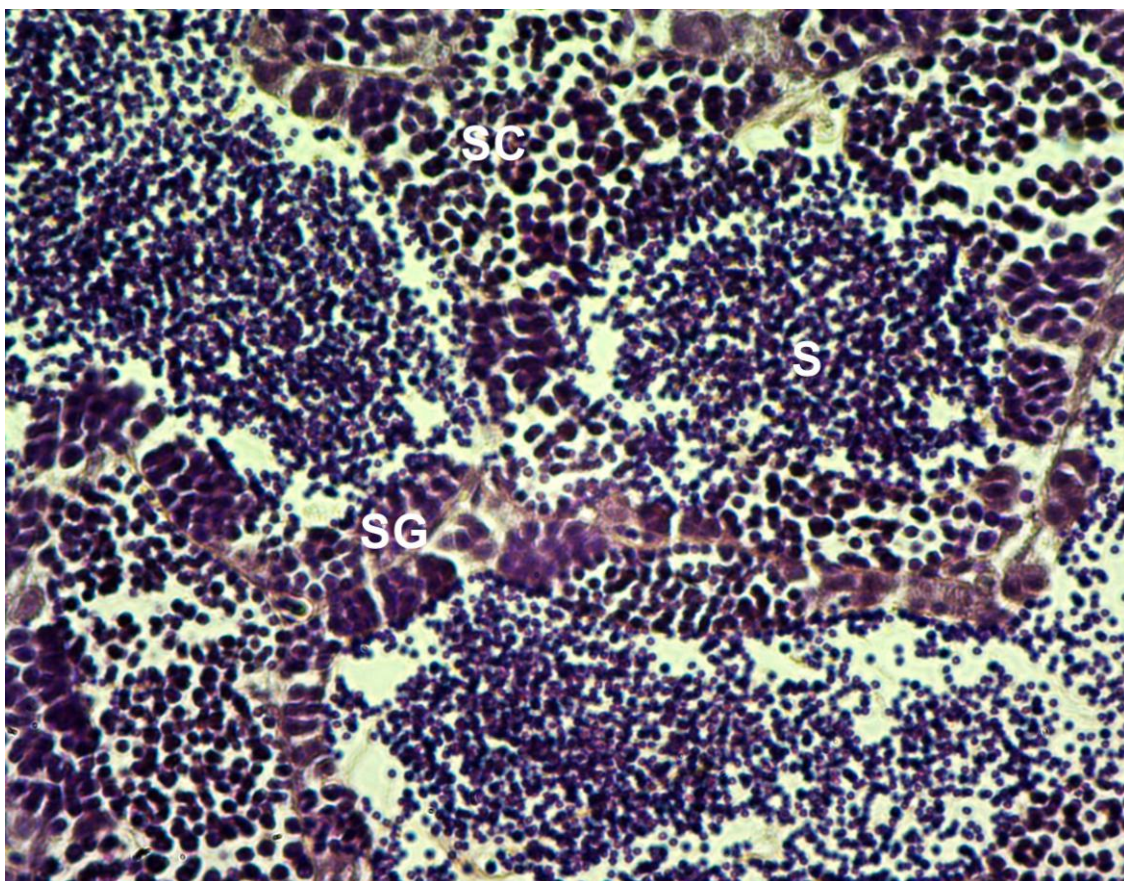
3.5. Utvrđeni stadiji spermatogeneze i sezonski ciklus

Na histološkim preparatima testisa 29 mužjaka, utvrđena su četiri razvojna stadija spermatogeneze: spermatogonije, spermatocite, spermatide i spermiji (slika 22). Spolno zrelim jedinkama možemo smatrati jedinke u čijim testisima su prisutne spermatide i spermiji, stoga je utvrđeno da su svi analizirani mužjaci bili spolno zreli.

Prostorni raspored razvojnih stadija spermatogeneze u tkivu testisa oštrulja nije kao u većine drugih vrsta riba. Zone pojedinog stadija međusobno nisu oštro razgraničene, stoga su u svim dijelovima tkiva vidljivi svi razvojni stadiji (slika 21).



Slika 21: Poprečni presjek kroz tkivo testisa oštrulja (SG - spermatogonije, SC - spermatocite, S - spermatide i spermiji), HE, x200



Slika 22: Razvojni stadiji spermatogeneze u testisu oštrulja (SG - spermatogonije, SC - spermatocite, S - spermata i spermiji), HE, x400

Jedinke su razdjeljene u četiri skupine, po mjesecima kada su ulovljene (slika 23).

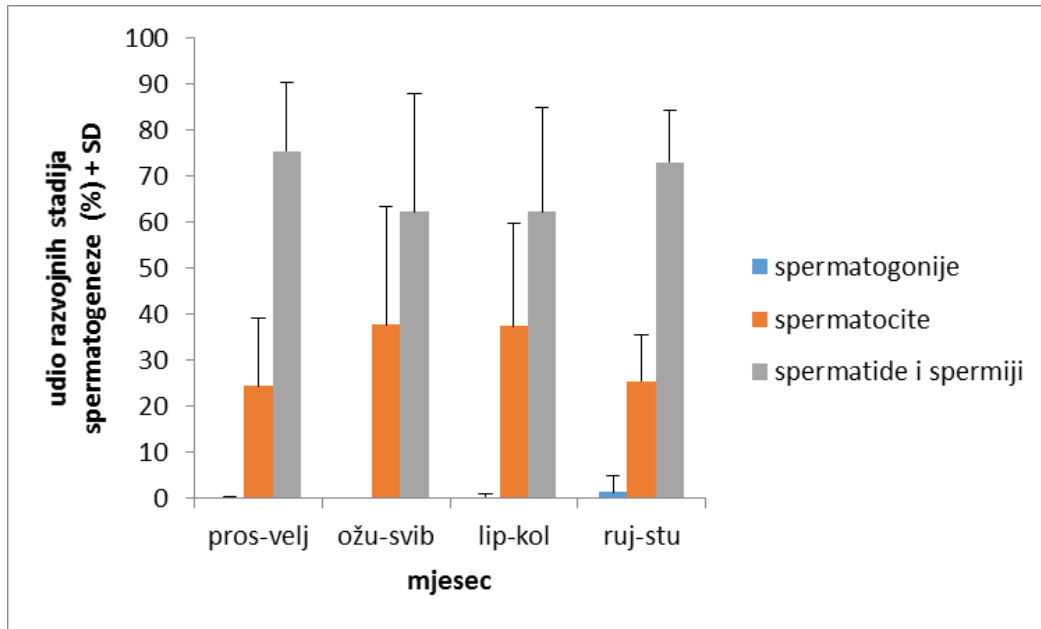
U prvoj skupini (od prosinca do veljače) obrađeno je 7 jedinki te je u njihovim testisima utvrđena prisutnost u prosjeku 75,44 % spermata i spermija, 24,45 % spermatocita i 0,10 % spermatogonija.

U drugoj skupini (od ožujka do svibnja) je obrađeno 5 jedinki, a u njihovim testisima pronađeno je u prosjeku 62,21 % spermata i spermija te 37,79 % spermatocita, dok spermatogonije nisu pronađene.

U trećoj skupini (od lipnja do kolovoza) obrađeno je 11 jedinki te je u njihovim testisima utvrđena prisutnost u prosjeku 62,26 % spermata i spermija, 37,39 % spermatocita i 0,35 % spermatogonija.

U četvrtoj skupini (od rujna do studenog) je obrađeno 6 jedinki, a u njihovim testisima je pronađeno u prosjeku 73,05 % spermata i spermija, 25,50 % spermatocita i 1,46 % spermatogonija.

Spermatide i spermiji prevladavaju u testisima svih analiziranih mužjaka, pri čemu je njihov najveći udio utvrđen kod mužjaka ulovljenog u svibnju, a iznosio je 99,77 %. Najmanji udio spermatida i spermija iznosio je 32,01 %, a utvrđen je u testisima mužjaka ulovljenog u lipnju.



Slika 23: Sezonski prikaz udjela pojedinih razvojnih stadija spermatogeneze u testisima oštrulja tijekom istraživanja

4. RASPRAVA

Reprodukcija oštrulje do sada nije bila detaljno istraživana. Postoji samo mali broj podataka o biologiji i morfologiji jaja (Rüdiger i Rüdiger 2002), fekunditetu (Aganović 1970) te ponašanju tokom mrijesta (Freyhof 1997). Rezultati ovog istraživanja su prvi podaci koji govore o spermatogenezi ove vrste.

Status ugroženosti oštrulje (ugrožena vrsta, EN) glavni je razlog ovom istraživanju, a dobiveni rezultati mogu biti primijenjeni u planiranju znanstveno utemeljene zaštite za ovu vrstu u regionalnim krškim rijekama i jezerima.

Istraživanu populaciju činilo je 29 mužjaka i 57 ženki. Omjer spolova u većine vrsta je 1:1, ali taj odnos može varirati unutar populacije, između populacija i od vrste do vrste (Markotić 2013). U ovoj populaciji ženke bročano dominiraju, ali hi-kvadrat test pokazuje da nema statistički značajne razlike od pretpostavljenog omjera spolova 1:1, što se može objasniti malim brojem uzoraka.

Ženke su u prosjeku veće od mužjaka. Navedena veličina jedinki oštrulja u literaturi je od 10 do 20 cm (Čaleta i sur. 2015), a s tim je u skladu veličina jedinki ove populacije, budući da je utvrđena prosječna standardna duljina tijela mužjaka 103,93 mm, a ženki 112,71 mm. Najveća ulovljena jedinka bila je ženka standardne duljine 134,35 mm, a najmanja jedinka bio je mužjak standardne duljine tijela 64,36 mm.

Vrijednosti gonadosomatskog indeksa u travnju dosežu maksimum, a onda postepeno opadaju do srpnja. Povećanjem mase gonada povećava se i GSI, što govori da su oštrulje od travnja spremne za mrijest. Opadanje srednjih vrijednosti gonadosomatskog indeksa od travnja do srpnja posljedica je pražnjenja sadržaja gonada (mrijesta) te njihova masa više nema toliki udio u ukupnoj masi tijela. Općenito, srednje vrijednosti GSI veće su za ženke nego za mužjake. Vrijednosti GSI za mužjake kreću se kao i kod ženki, ali razlika između rasta i pada nije toliko istaknuta, što je i očekivano, jer je veličina spolnih stanica mužjaka puno manja od veličina koje dosegnu jajne stanice ženki. S obzirom na dobivene vrijednosti GSI, možemo zaključiti da one nisu dobar indikator sezonskog ciklusa mužjaka oštrulja, stoga je potrebna histološka analiza testisa.

Veličina izmjerenih jaja u jajnicima ženki kreće se od 0,19 mm do 2,19 mm. Zrelim jajima smatrana su jaja promjera većeg od 1,5 mm (Rüdiger i Rüdiger 2002), a pronađena su samo u jajnicima ženki ulovljenih u razdoblju od travnja do srpnja. Povećanje udjela zrelih jaja u jajnicima u skladu je s kretanjem srednjih vrijednosti gonadosomatskog indeksa, što potvrđuje pretpostavljeno vrijeme mrijesta.

Kada se uzme u obzir izračunati gonadosomatski indeks i izmjerena veličina jaja ženki, vidljivo je da reproduktivni ciklus oštrulje počinje u travnju i traje do kraja srpnja. Kottelat i Freyhof (2007) navode da mrijest počinje u svibnju, pri temperaturi vode od 13 do 17 °C. Rüdiger i Rüdiger (2002) su u laboratorijskim uvjetima uočili da mrijest počinje pri 20 °C. Čaleta i sur. (2015) i Freyhof (1997) navode također temperaturni raspon od 13 do 17 °C, ali i da mrijest počinje nešto ranije, u travnju. Temperaturni podaci dobiveni od DHMZ-a za razdoblje u kojem je provedeno istraživanje, ne podudaraju se s podacima koje su Rüdiger i Rüdiger (2002) dobili u laboratorijskim uvjetima. Na postaji Roški slap, prosječna temperatura vode u travnju bila je 12,4 °C, dok je prosječna temperatura na postaji NP Krka iznosila 14,0 °C. U srpnju je prosječna temperatura vode na postaji Roški slap bila 17,3 °C, a na postaji NP Krka 22,9 °C. Ovi podaci pokazuju da mrijest oštrulja počinje ranije od pretpostavljenog, odnosno pri temperaturama od oko 12 °C, što se podudara s ostalim literaturnim podacima (Čaleta i sur. 2005; Kottelat i Freyhof 2007; Freyhof 1997).

Prosječan broj svih jaja (i zrelih i nezrelih) u jajnicima ženki je iznosio od 835 do 10520 jaja. Aganović (1970) je u svom istraživanju utvrdio da je prosječan broj jaja u jajnicima iznosio od 1808 do 4395 jaja. Analizirao je samo ženke koje se još nisu počele mrijestiti, a sakupljene su tokom svibnja. Ženke kod kojih je uočio potpuno ili djelomično izbacivanje jajašaca nije uzeo u obzir pri analizi fekunditeta. Podaci dobiveni našim istraživanjem temeljeni su na ženkama ulovljenima kroz cijelu sezonu mrijesta, što objašnjava razlike u apsolutnom fekunditetu. Najveći ukupan broj jaja (10520 jaja) zabilježen je za ženku standardne duljine tijela 132 mm i mase tijela 48,0 g, ulovljenu u lipnju.

Fekunditet jednog mrijesta (BF), odnosno broj zrelih jaja u jajnicima, iznosio je od 68 do 1154 jaja. Najveći BF (1154 zrelih jaja) zabilježen je kod ženke ulovljene u lipnju (SL = 131,3 mm, m = 45,1 g). Ukupan broj analiziranih jedinki bio je malen, ali kada su svrstane u veličinske razrede, broj zrelih jaja pokazivao je značajnu korelaciju s veličinom ($R^2 = 0,909$) i masom jedinke ($R^2 = 0,8197$) te masom gonada ($R^2 = 0,8006$).

Za pojedine ženke velike standardne duljine i mase tijela, izračunati BF bio je dosta mali. Primjerice, za ženku standardne duljine 128 mm i ukupne mase 47,9 g, broj zrelih jaja iznosio je 232, dok je ženka približno iste veličine (SL = 125 mm, m = 40,0 g), imala 983 zrela jaja. Ovakav rezultat objašnjava činjenica da su pojedine ženke ispustile veći dio svojih zrelih jaja netom prije ulova. To potvrđuje da se oštrulje razmnožavaju porciono, odnosno više puta unutar sezone mrijesta (Rüdiger i Rüdiger 2002; Freyhof 1997). Ribe koje imaju ovaj tip razmnožavanja izbacuju jaja više puta godišnje. Međutim, Freyhof (1997) je promatrajući razmnožavanje oštrulja u akvariju uočio da ženka položi vrlo malen broj jaja odjednom. S obzirom na podlogu koju oštrulje odabiru za

polaganje jaja (najčešće pukotine u stijenama), malen broj jaja je očekivan, ženka položi onoliko jaja koliko stane u pukotinu. Jednom prilikom, Freyhof je pronašao svega 23 jaja u pukotini kamena, što je jako malo s obzirom na ukupan broj zrelih jaja koja ženka može imati u jajniku. Iz tog razloga se u jajnicima svih ženki ulovljenih unutar utvrđene sezone mrijesta mogu vidjeti i zrela i nezrela jaja, a njihov razmještaj u jajniku je nasumičan. U prilog porcionom mrijestu ide i analiza testisa mužjaka. U testisima je vidljiv nešto veći udio spermatogonija i spermatacita u razdoblju od lipnja do kolovoza, što može uputiti na početak novog ciklusa spermatogeneze usred sezone mrijesta.

Rüdiger i Rüdiger (2002) su u svom laboratorijskom istraživanju proučavali sezonsku aktivnost oštrulja. Razdoblje od listopada do ožujka zabilježili su kao interval mirovanja jedinki, odnosno one nisu napuštale svoja skloništa. Ti rezultati podudaraju se s pretpostavljenim povlačenjem oštrulja u podzemlje tijekom zimskih mjeseci, a potvrđeni su i ovim istraživanjem, budući da u navedenom periodu kod ženki nisu pronađena zrela jaja. S obzirom da oštrulje napuštaju svoja podzemna skloništa u ožujku, te je prosječna temperatura vode blizu teoretskoj temperaturi vode pri kojoj se oštrulji mrijeste, moguće je da mrijest počinje već tada. Nažalost, zbog nedostatka uzoraka u veljači i ožujku, to ne možemo sa sigurnošću utvrditi.

Reproduktivni ciklus mužjaka i ženki ne mora nužno biti sinkroniziran. Histomorfometrijskom analizom testisa utvrđeno je da je spermatogeneza oštrulje kontinuiran proces, odnosno svi stadiji spermatogeneze (spermatogonije, spermatacitate, spermatacitate i spermiji) su vidljivi tijekom cijele godine. Udio najrazvijenijih faza spermatogeneze (spermatida i spermija) opada od veljače do kolovoza, što je u skladu s rezultatima GSI te upućuje da se jedinke u tom razdoblju intenzivno razmnožavaju. Svi analizirani mužjaci bili su spolno zreli, s obzirom na prisutnost svih stadija spermatogeneze. Utvrđen je visok udio spermatacitate i spermija tokom zimskih mjeseci pa je moguće da mužjaci zimi čuvaju spermu, do početka sezone mrijesta. U periodu od rujna do studenog, prosječan udio spermatacitate i spermija u testisima mužjaka bio je 73,05 %, a od prosinca do veljače 75,44 %. Ovaj rezultat trebalo bi potvrditi istraživanjem drugih dijelova genitalnog trakta te analizom hormona. S obzirom da udio pojedinog razvojnog stadija spermatogeneze dosta varira od mužjaka do mužjaka, istraživanje treba ponoviti na većem broju uzoraka.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata provedenog istraživanja o razmnožavanju oštrulje, došli smo do sljedećih zaključaka:

- omjer spolova oštrulja tokom istraživanja statistički ne odstupa značajno od pretpostavljenog omjera 1:1
- ženke istraživane populacije postižu veće duljine i mase tijela od mužjaka
- srednje vrijednosti gonadosomatskog indeksa veće su za ženke te imaju veći raspon nego kod mužjaka
- srednje vrijednosti gonadosomatskog indeksa u travnju dosežu maksimum, a onda postepeno opadaju do kolovoza
- veličina izmjerenih jaja ženki kretala se od 0,19 do 2,19 mm, dok su zrelim jajima smatrana samo ona promjera većeg od 1,5 mm
- povećanje udjela zrelih jaja u jajnicima u skladu je s kretanjem srednjih vrijednosti gonadosomatskog indeksa
- fekunditet jednog mrijesta (BF), odnosno broj zrelih jaja u gonadama pojedine zrele ženke iznosio je od 68 do 1154 jaja
- broj zrelih jaja (BF) pokazao je značajnu korelaciju s veličinom ($R^2 = 0,909$), masom jedinke ($R^2 = 0,8197$) te masom gonada ($R^2 = 0,8006$)
- temperatura vode u vrijeme mrijesta bila je od 12,4 °C do 17,3 °C (postaja Roški slap), odnosno od 14,0 °C do 22,9 °C (postaja NP Krka)
- histomorfometrijskom analizom preparata testisa utvrđena su četiri razvojna stadija spermatogeneze (spermatogonije, spermatocite, spermatide i spermiji), pri čemu zone pojedinog stadija nisu oštro razgraničene
- prisutnost spermatida i spermija u testisima svih analiziranih mužjaka upućuje na to da su svi bili spolno zreli
- utvrđeno je da se oštrulje mrijeste porciono, odnosno više puta unutar sezone mrijesta

6. LITERATURA

Aganović M. (1970): Plodnost oštrulja (*Aulopyge huegelli* Heck) iz voda Livanjskog polja, Croatian Journal of Fisheries, Vol. 25 No. 1

Blazer V.S. (2002): Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes, Fish Physiology and Biochemistry 26, 85–101.

Crim L.W. i Glebe B.D. (1990): Reproduction u: Moyle P.B. i Shreck C.B. (ur.): Methods for fish biology, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 529-553.

Crivelli A.J. (2006): *Aulopyge huegellii*, The IUCN Red List of Threatened Species 2006: e.T61350A12466288, <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T61350A12466288.en> , pristupljeno 28.7.2016

Čaleta M., Buj I., Mrakovčić M., Mustafić P., Zanella D., Marčić Z., Duplić A., Mihinjač T. i Katavić I. (2015): Hrvatske endemske ribe, Agencija za zaštitu okoliša, Zagreb.

Delić A., Kučinić M., Marić D. i Bučar M. (2005): Novi podaci o rasprostranjenosti riba *Phoxinellus alepidotus* (Heckel, 1843) i *Aulopyge huegellii* (Heckel, 1841), Natura Croatica, Vol. 14, No. 4., 351–355, Zagreb.

Dinarsko gorje (2016), <http://www.dinarskogorje.com/rijeke-jadranskoga-sliva-slijeva.html#b2> , pristupljeno 29.7.2016.

FishBase (2016): <http://www.fishbase.se/summary/Aulopyge-huegellii.html> , pristupljeno 28.7.2016.

Freyhof J. (1997): Zur Fortpflanzungsbiologie des Barbengründlings, Die Aquarien und Terrarien Zeitschrift 50, 513–516

HDBI (2016): Hrvatsko društvo za biološka istraživanja, <http://www.ribe-hrvatske.com/new/index.php/popisvrsta/49-cyprinidae/139-aulopyge-huegelii> , pristupljeno 28.7.2016.

Hubert W. A., Pope K.L. i Dettmers J.M. (2012): Passive capture techniques, 223-265 u: Zale A.V., Parrish D.L. i Sutton T.M. (ur.): Fisheries techniques, 3rd edition, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Jelić D., Duplić A., Čaleta M., Žutinić P. (2008): Endemske vrste riba jadranskog sliva, Agencija za zaštitu okoliša, Zagreb

Kottelat M. i Freyhof J. (2007): Handbook of European Freshwater Fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.

Markotić I. (2013): Biološke i ekološke značajke prikanca, *Phoxinellus pseudalepidotus* Bogutskaya i Zupančić, 2003, (Teleostei, Cyprinidae) na području Mostarskog blata, BIH, doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek.

Miller B.S. i Kendall A.W. (2009): Fish reproduction, u: Miller B.S. i Kendall A.W.: Early Life History of Marine Fishes, University of California press, 9-37

Mumford S., Heidel J., Smith C., Morrison J., MacConnell B. i Blazer V. (2007.): Fish Histology and Histopathology, 4th edition, US Fish & Wildlife Service, West Virginia

Mrakovčić M., Brigić A., Buj I., Čaleta M., Mustafić P. i Zanella D. (2006): Crvena knjiga slatkovodnih riba Hrvatske, Ministarstvo kulture Republike Hrvatske, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

Mrakovčić M. i Mišetić S. (1990): Status, distribution and conservation of the salmonid, *Salmothymus obtusirostris* (Heckel) and the cyprinid, *Aulopyge hugeli* (Heckel) in Yugoslavia, Journal of Fish Biology 37, 241-242

Nelson J.S. (2006): Fishes of the world, fourth edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey

NP Krka (2016): Nacionalni park "Krka", <http://www.np-krka.hr/stranice/prirodna-bastina/49/hr.html> , pristupljeno 29.7.2016.

Reynolds J.B. (1996): Electrofishing, u: Murphy B. R. i Willis W. D. (ur.): Fisheries Techniques, 2nd edition, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 22–253

Rüdiger B. i Rüdiger R. (2002): Biology and egg morphology of the Dalmatian barbelgudgeon *Aulopyge huegeli*, an endangered endemic species in Croatia, *Environmental Biology of Fishes* 63, 451–456

Seeley H. G. (1886): The freshwater fishes of Europe, Cassell and company, London, Paris, New York, Melbourne.

Yoshida S. (2016): From cyst to tubule: innovations in vertebrate spermatogenesis, *WIREs Developmental Biology* 5, 119-131, Wiley Periodicals, Inc.

7. ŽIVOTOPIS

Marija Mihalić

Datum i mjesto rođenja: 13.9.1991., Zagreb

Prebivalište: Bukovačka 5, 44330 Novska

Mobitel: 091 170 6689

Mail: marija.mihalic114@gmail.com

Obrazovanje

Integrirani preddiplomski i diplomski studij biologije i kemije, smjer nastavnički, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (2010.-2016.)

Opća gimnazija, Srednja škola Novska (2006.-2010.)

Radno iskustvo

Demonstrator na kolegiju Kralježnjaci, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (zimski semestar akademske godine 2013./2014.)

Volonter u udruzi Bioteka-udruga za promicanje biologije i srodnih znanosti, Zagreb (2015.)

Iskustvo u organizacijskim poslovima

Organizacija i provođenje manifestacije "Noć biologije" na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu (2012.-2016.)

Nagrade i priznanja

Posebna Rektorova nagrada za sudjelovanje u manifestaciji "Noć biologije" za akademsku godinu 2011./2012

Stipendija grada Novske za akademsku godinu 2013./2014., 2014./2015. i 2015./2016.

Certificate of participation, for participating in the 12th Croatian Biological Congress, 2015.