

**Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích**  
**Fakulta rybářství a ochrany vod**  
**Ústav akvakultury**

**Diplomová práce**

Délkový a hmotnostní růst raného plůdku candáta  
obecného krmného obohacenými naupliemi  
žábronožky v experimentálních podmínkách

**Autor:** Bc. Antonín Jankových

**Vedoucí bakalářské práce:** prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

**Konzultant bakalářské práce:** doc. Marina Alexandrovna Chepurkina Csc.

**Studijní program a obor:** Zootechnika, Rybářství

**Forma studia:** prezenční

**Ročník:** druhý

České Budějovice 2014

## **PROHLÁŠENÍ**

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

Datum

Podpis studenta

**Poděkování:**

Děkuji svému vedoucímu prof. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. i konzultantce doc. Marině Alexandrovně Chepurkině, CSc. za jejich trpělivost, metodické vedení, odbornou pomoc a poskytnuté rady. Dále chci poděkovat Ing. Pavlu Šablaturovi za pomoc při konstrukci recirkulačního systému a účasti na experimentech, Ing. Václavu Bystřickému, Ph.D. za rady při statistickém posouzení výsledků mé práce a Ing. Michalu Gučíkovi, Ing. Janu Matouškovi, Ing. Markétě Prokešové a Bc. Janu Brožovi za pomoc při nasazování, počítání a přelovování ryb.

**ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**  
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Antonín JANKOVÝCH**  
Osobní číslo: **V12N004P**  
Studijní program: **N4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Délkový a hmotnostní růst raného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) krmeného obohacenými naupliemi žábřonožky v experimentálních podmínkách**  
Zadávající katedra: **Ústav akvakultury**

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

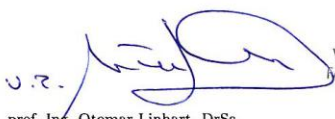
Cílem práce je experimentálně ověřit vliv použití nauplií žábřonožky (*Artemia* sp.) obohacených polynasyčenými masnými kyselinami na přežití a růst plůdku candáta obecného v kontrolovaných podmínkách prostředí. Uvedený způsob výživy se osvědčil u některých druhů ryb, náročných na masový odchov v kontrolovaných podmínkách prostředí (některé mořské druhy ryb, jeseter malý, jeseter sibiřský a jeseter ruský).

Metodický postup práce bude spočívat ve zpracování literární rešerše zaměřené jednak na použití obohacených živých krmiv pro odchov plůdku ryb, jednak na současný stav technologie odchovu plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*). Další součástí diplomové práce je uskutečnění experimentu s odchovem plůdku candáta v laboratorních podmínkách v průtočných akváriích. Experiment bude zahrnovat 2-3 různé varianty krmení obohacenými živými naupliemi žábřonožek (lišící se délkou podávání obohacené potravy, příp. jiným faktorem) a kontrolní variantu (krmenou neobohacenými naupliemi žábřonožek), vždy ve 3 opakováních. Krmení bude prováděno v několikahodinových intervalech v předem určených dávkách s ohledem na aktuální biomasu odchovávaného plůdku. Váčekový plůdek původem z umělého výtěru bude před ukončením embryonální výživy vysazen v obvyklých obsádkách (shodných u jednotlivých skupin) do průtočných akvárií, jež budou součástí experimentálního recirkulačního systému v akvariijní místnosti ÚA FROV v Českých Budějovicích. Teplota vody bude udržována na optimálních hodnotách pro tento druh ryby. V průběhu odchovu bude denně evidován úhyn. Předpokládaná délka odchovu je 30 dnů. V průběhu odchovu bude provedeno šetrné přelovení plůdku (při němž budou odebrány vzorky pro stanovení mokré hmotnosti, délkových a kondičních ukazatelů a provedeny případné úpravy koncentrace obsádek). Za jednotlivá dílčí období odchovu i celkově budou statisticky vyhodnoceny parametry: přežití, délkový a hmotnostní růst (vč. variability), krmný koeficient a testována průkaznost dosažených rozdílů.

Rozsah grafických prací: **8 grafů**  
Rozsah pracovní zprávy: **40 stran**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:

Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P. 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 13, 335-347.  
Kestemont, P., Henrotte, E., Wang, N., Hamza, N., Paulsen, H., Overton, J. 2008. Feeding and nutrition of European percid broodstock and early life stages. In: P. Fontaine, P. Kestemont, F. Teletchea, N. Wang (eds.): *Percid fish culture from research to production*, Namur (Belgium), p. 28-34.  
Prusińska, M., Chepurkina, M. 2011. Kormlenije naturalnym kormom osetrov na juvenilnyh stadijah razvitija. In: R. Kolman, M. Prusińska (eds.): *Problemy vyrashchivanija juvenilnyh osetrovyh ryb*. IRŠ Olsztyn, p. 23-33.  
Prusińska, M., Chepurkina, M., Duda, A., Wiszniewski, G., Kolman, R. 2011. Vstepne wyniki podchovu larv jesiotra rosyjskego (*Acipenser gueldanstadtii*) karmionych žywym pokarmem wzbogacany. (in press).  
Sorgeloos, P., Dherst, P., Candreva, P. 2001. Use the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200: 147-159.  
Szczepkowski, M., Zakes, Z., Szczepkowska, B., Piotrowska, I. 2011. Effect of size sorting on the survival, growth and cannibalism in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) larvae during intensive culture in RAS. *Czech J. Anim. Sci.* 56, 483-489.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.**  
Ústav akvakultury  
Konzultant diplomové práce: **doc. Marina Chepurkina, CSc.**  
Datum zadání diplomové práce: **7. prosince 2012**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2014**

  
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zátiš 123/II  
389 25 Vodňany (2)

  
Ing. Pavel Vejsada, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2013

## **OBSAH:**

<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>- 10 -</b>
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>- 12 -</b>
<b>2.1. Přirozená potrava larválního stádia candáta obecného .....</b>	<b>- 12 -</b>
<b>2.2. Metody odchovu plůdku candáta obecného.....</b>	<b>- 12 -</b>
2.2.1. Chov v rybníce .....	- 12 -
2.2.1.1. Odchov rychleného plůdku v monokultuře .....	- 12 -
2.2.1.2. Odchov rychleného plůdku do stáří ročka.....	- 13 -
2.2.1.3. Produkce plůdku candáta v polykultuře .....	- 13 -
2.2.2. Rybniční odchov pro intenzivní akvakulturu .....	- 14 -
2.2.2.1. Vliv litorální vegetace na rychlost růstu rychleného plůdku candáta .....	- 14 -
2.2.2.2. Odlov juvenilních ryb .....	- 15 -
2.2.3. Odchov larválního a juvenilního stádia candáta v kontrolovaných podmínkách..	- 15 -
2.2.3.1. Potravní adaptace na kontrolované podmínky prostředí .....	- 15 -
2.2.3.1.2. Metody převodu plůdku candáta na umělé krmivo .....	- 15 -
<b>2.3. Vývoj trávicího traktu candáta obecného.....</b>	<b>- 16 -</b>
2.3.1. Trávicí trakt ve fázi endogenní výživy.....	- 16 -
2.3.2. Trávicí trakt při kombinované výživě (žloutkový váček + exogenní výživa).....	- 17 -
2.3.3. Trávicí trakt v juvenilní periodě.....	- 17 -
2.3.4. Dynamika sekrece enzymů během vývoje trávicího traktu.....	- 18 -
<b>2.4 Nutriční požadavky plůdku candáta .....</b>	<b>- 18 -</b>
2.4.1. Proteiny .....	- 18 -
2.4.2. Lipidy .....	- 19 -
2.4.2.1 Mastné kyseliny .....	- 19 -
2.4.2.1.2. Požadavky larev a juvenilních ryb na obsah esenciálních mastných kyselin.	- 20 -
2.4.3. Důležitost mastných kyselin ve výživě larválního stádia candáta obecného .....	- 21 -
<b>2.5. Syndrom nenaplňování plynového měchýře (NGB ; non-gas bladder).....</b>	<b>- 21 -</b>
2.5.1. Příčiny nenaplňování plynového měchýře .....	- 21 -

2.5.2. Funkce plynového měchýře a jeho anatomie u okounovitých ryb .....	- 21 -
2.5.3. Vývoj plynového měchýře u candáta obecného a candáta východního .....	- 22 -
2.5.4. Možná řešení ke snížení vlivu NGB .....	- 23 -
2.5.5. Důsledky způsobené NGB .....	- 23 -
<b>2.6. Kanibalismus .....</b>	<b>- 23 -</b>
2.6.1. Příčiny kanibalismu.....	- 24 -
2.6.1.2. Heterogenita obsádky.....	- 24 -
2.6.1.3. Vliv různé doby inkubace na kanibalismus.....	- 24 -
2.6.1.4. Vliv hustoty obsádky na projevy kanibalismu .....	- 24 -
2.6.2. Možnosti snížení vlivu kanibalismu.....	- 25 -
<b>2.7. Rod žábřonožka (<i>Artemia</i>).....</b>	<b>- 25 -</b>
2.7.1. Taxonomické členění .....	- 25 -
2.7.2. Životní prostředí artemie.....	- 26 -
2.7.2.1. Geografické rozšíření .....	- 26 -
2.7.3. Historie využití žábřonožky solné v akvakultuře.....	- 26 -
2.7.4. Reprodukční biologie artemie .....	- 27 -
2.7.5. Formy žábřonožky používané v akvakultuře .....	- 28 -
2.7.5.1. Nově vylíhnutá nauplia .....	- 28 -
2.7.5.1.2. Uchování nauplií při nízké teplotě .....	- 29 -
2.7.5.2. Metanauplia.....	- 29 -
2.7.5.3. Juvenilové a dospělci artemie .....	- 29 -
2.7.5.4. Zmražená artemie.....	- 30 -
2.7.5.5. Dekapsulovaná artémie .....	- 31 -
2.7.5.5.1. Obaly trvalých vajíček artémie .....	- 31 -
2.7.5.5.2. Výhody dekapulace .....	- 31 -
2.7.5.5.3. Nevýhody dekapulace.....	- 31 -
2.7.5.5.4. Postup dekapulace .....	- 32 -
2.7.5.5.4.1. Hydratace .....	- 32 -
2.7.5.5.4.2. Dekapsulace .....	- 32 -

2.7.5.5.4.3. Propláchnutí .....	32 -
2.7.5.5.4.4. Dezaktivace .....	32 -
2.7.5.5.5. Užití dekapulovaných vajíček a jejich uchování .....	33 -
2.7.6. Změny v obsahu energie a suché hmotnosti u různých forem artémie .....	33 -
2.7.7. Využitelnost artémie v rozkrmu larev .....	33 -
2.7.8. Nutriční složení nauplií artémie .....	34 -
2.7.9. Bioenkapsulace metanauplií artémie.....	35 -
2.7.9.1. Bioenkapsulační média .....	36 -
2.7.9.1.1. Jednobuněčné řasy .....	36 -
2.7.9.1.2. Probiotické kvasinky .....	36 -
2.7.9.1.3. Probiotické bakterie .....	37 -
2.7.9.1.4. Liposomy.....	37 -
2.7.9.1.5. Ztuhlé lipidové kapénky- lipid spray beads (LSB) .....	38 -
2.7.9.1.6. Emulze olejů s vysokým obsahem HUFA .....	39 -
2.7.9.2. Postup bioenkapsulace artémií.....	40 -
2.7.9.3. Srovnání účinnosti komerčních přípravků pro obohacení artémie.....	40 -
<b>3. MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>41 -</b>
<b>3.1. Recirkulační systém .....</b>	<b>41 -</b>
3.1.2. Experimentální nádrže .....	41 -
<b>3.2. První fáze odchovu candáta (5.4. 2013- 26. 4. 2013) .....</b>	<b>41 -</b>
3.2.1. Postup inkubace artémie .....	42 -
3.2.2. Separace artémií .....	42 -
3.2.3. Přechovávání nauplií.....	43 -
3.3.2. Ukončení pokusu.....	45 -
3.3.3 Postup při obohacování nauplií artémie .....	45 -
3.3.4 Podmínky krmného pokusu s obohacenou artémií .....	46 -
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>48 -</b>
<b>4.1. Inkubace artémie.....</b>	<b>48 -</b>



<b>4.3. Pokusy s obohacenou artémií.....</b>	<b>- 48 -</b>
4.3.1. Porovnání velikosti obohacených a neobohacených nauplií artémie .....	- 48 -
4.3.2. Hmotnostní a délkový růst raného plůdku candáta, míra kanibalismu a preference potravy v rámci jednotlivých skupin (27.4.- 5.5. 2013).....	- 50 -
4.3.3. Přežití plůdku candáta po pokusu s obohacenou artémií a zaznamenaná mortalita během experimentu. ....	- 54 -
<b>5. DISKUZE .....</b>	<b>- 56 -</b>
<b>5.1. Inkubace a porovnání velikosti obohacených a neobohacených artémií .....</b>	<b>- 56 -</b>
<b>5.2. Hmotnostní a délkový růst raného plůdku candáta, míra kanibalismu a preference potravy v rámci jednotlivých skupin.....</b>	<b>- 57 -</b>
<b>5.3. Přežití plůdku candáta a zaznamenaná mortalita .....</b>	<b>- 58 -</b>
<b>5.4. Vliv rozpuštěného kyslíku, teploty a pH na pokus s obohacenou artémií.....</b>	<b>- 59 -</b>
<b>6. ZÁVĚR .....</b>	<b>- 60 -</b>
<b>7. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>- 61 -</b>
<b>8. PŘÍLOHY .....</b>	<b>- 73 -</b>
<b>9. ABSTRAKT .....</b>	<b>- 80 -</b>
<b>10. ABSTRACT.....</b>	<b>- 81 -</b>

## 1. ÚVOD

Candát obecný (*Sander lucioperca*) je významným a pro evropskou akvakulturu velmi perspektivním a ceněným druhem ryby. Tržní candát na českém trhu pochází jednak z dovozu ze zahraničí (zpravidla z odlovů z jezer), jednak z extenzivní produkce v rybnících (příčemž významná část je exportována do zahraničí). Významný je i podíl loveného candáta na udici. Maso candáta je velmi chutné a poptávka na trhu roste. Pro uspokojení potřeb evropského trhu je potřebné produkovat candáta obecného ve větší míře a to nejlépe po celý rok (Dil, 2008). Výborná kvalita masa a jeho nedostatečná produkce má za následek vysokou cenu tržních ryb (Steffens a kol., 1996). Racionální možností jak zvýšit produkci candáta je jeho chov v kontrolovaných podmínkách prostředí. Proto vznikají v Evropě farmy s využitím recirkulačních systémů jako alternativy k odlovu candáta z volných vod a jeho chovu v rybniční polykultuře. Větší velikost candáta je vhodná hlavně pro biomanipulační opatření, kdy candát působí svým predačním tlakem na ostatní společenstva ryb. Především se využívá ve vodárenství k regulaci menších kaprovitých druhů ryb za účelem udržení vysoké kvality vody (Lusk a kol., 1983) a rovněž se vysazuje do volných vod pro účely sportovního rybolovu (Steffens a kol., 1996).

V České republice je chován candát obecný několika způsoby. Již od 16. století až do dnešní doby extenzivně v polykulturních obsádkách (Baruš a Oliva, 1995). Rybniční odchov násad ať už se jedná o rychlený plůdek nebo ročka je ovšem limitován nedostatkem vhodných rybníků, ale také nedostatkem krmných ryb (Baránek a kol., 2006). Další způsob experimentálně vyzkoušený nabízí kombinace rybničního a intenzivního chovu (Baránek a kol., 2006; Stejskal a kol., 2010; Polícar a kol., 2011). V západní Evropě (Dánsko, Nizozemí, Francie, Belgie) se k intenzivnímu chovu candáta využívají převážně recirkulační akvakulturní systémy, kde je dosaženo jeho celoroční produkce dosažené manipulací s fotoperiodou (Phillipsen, 2008). Je nutné zdůraznit, že intenzivní chov se potýká se zhoršenou reprodukcí generačních ryb vyznačující se nízkým procentem pohlavně zralých a ovulace schopných jikernaček, sníženou pohyblivostí a životaschopností spermií, nízkou oplozeností jiker, nízkým procentem líhivosti plůdku. Vylíhnutá embrya se vyznačují vysokým procentem deformit a sníženou životaschopností (Kestemont a kol., 2007; Wang, 2009).

V souvislosti se zhoršenou životaschopností larev a zvýšeným procentem deformací dochází k rozvoji nových technologií založených na porozumění procesům týkajících se vývoje trávicího systému larválních stádií ryb a prevenci vysoké mortality. Konkrétně se jedná o obohacování nauplií artémii, záměrně kultivovaného živého krmiva, jež je používáno k intenzivnímu odkrmu plůdku. Nauplia, jsou poté, co prostřednictvím trávicího traktu absorbují některé specifické látky, použity ke zkrmení a odchovávaný plůdek tak přijme nutrienty důležité pro svůj vývoj. Obsah nutrientů v živé potravě je ovlivněn metabolismem krmného organismu (Hamre a kol., 2012). K obohacení nauplií artémie se používají hlavně vysoce nenasycené mastné kyseliny, minerální látky nebo vitamíny, protože samotná artémie obsahuje tyto látky v nedostatečné míře. Bylo prokázáno, že v přírodních podmínkách u různých druhů artémií je jiné složení a obsah nenasycených mastných kyselin v závislosti na jejich přirozené potravě (Wantanabe, 1978; Ruiz, 2007).

Alternativou k živé potravě jsou startérové směsi. Problémem u startérových směsí je především fyzikální stabilita krmných částic a následné vyluhování důležitých nutričních látek do vody. Většina rybích larev špatně přijímá mikrodiety, zvláště semipurifikované (Hamre a kol., 2012).

Optimalizace nutričních požadavků larválních stádií ryb přispěje k vyšší produkci odolnějších násad, přesto je velmi těžké tohoto cíle dosáhnout, zvážíme-li citlivost larev a problémy spojené s fyziologickým a metabolickým vývojem, které mohou zapříčinit neuspokojivý růst nebo výskyt vývojových vad (Hamre a kol., 2012).

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Přirozená potrava larválního stádia candáta obecného

Candát se v prvním roce života může živit pouze zooplanktoními a fytobentickými živočichy, nebo může přejít na piscivorní způsob života doprovázený výrazně rychlejším růstovým tempem, pokud má k dispozici dostatečné množství velikostně dostupných ryb sloužících jako kořist (Musil a Kouřil, 2006). Peterka a kol., (2003) zkoumali přirozenou potravu plůdku candáta v rybnících a v nádrži Římov. Plůdek v rybnících po vykulení začal nejprve přijímat vířníky (*Rotifera*) avšak velmi rychle byli nahrazeni kopepoditovými stádii buchanek (*Cyclopoida*) a candáti je konzumovali až do velikosti 10 mm. Na začátku exogenní výživy začal plůdek přijímat daňiový zooplankton ale cílenou selekci je možné pozorovat až od velikosti 15 mm. V nádrži Římov plůdek vůbec nepřijímal vířníky, do stádia 10 mm byly nejčastější potravou perloočky zvláště *Daphnia galeata* a *Diaphanosoma brachyurum*. Dominantní potravu představoval první instar buchanek rodu *Eudiaptomus gracilis* a *Cyclops spp.* Po dosažení velikosti 20 mm začaly larvy candáta přijímat dravou perloočku *Leptodora kindtii*. Podle studie Steffense (1960) realizované ve 24 rybnících byly v potravě candáta nejvíce zastoupeny tyto organismy: perloočky *Daphnia longispina*, larvy komára *Corethra plumicornis*, jepice *Cleon dipterum* a larvy pakomárů *Glyptotendipes sp.* a *Chironomus plumosus*.

### 2.2. Metody odchovu plůdku candáta obecného

#### 2.2.1. Chov v rybníce

K odchovu candáta obecného v rybníce se používá několik metod; odchov rychleného plůdku v monokultuře, odchov rychleného plůdku do stáří ročka (podzimní plůdek) a produkce plůdku candáta v polykultuře (Musil a Kouřil, 2006).

##### 2.2.1.1. Odchov rychleného plůdku v monokultuře

Tento způsob produkce plůdku je nejrozšířenější a vysoce efektivní obzvláště ve střední Evropě (Hilge a Steffens, 1996). Hnízda s oplozenými candátími jikrami jsou nasazována do rybníků předem vyhnojených vyzrálou chlěvskou mrvou nebo kompostem. Výtěrová hnízda je nejvhodnější vysazovat do rybníků po uplynutí dvou třetin inkubační doby. Dále je vhodné překrýt inkubační hnízda sítí nebo pletivem kvůli

ochraně před predátory a umístit je co nejbližší k přítoku vody (Klimeš a Kouřil, 2003).

Hustota počáteční obsádky by měla být maximálně 100000 kusů na hektar v závislosti na úživnosti rybníka (Steffens a kol., 1996) Délka odchovu plůdku se pohybuje v rozmezí 1,5 až 2,5 měsíce a loví se většinou od června až do první poloviny července, kdy se jeho celková délka těla (*l.t.*) pohybuje mezi 35 až 40 milimetry. Sledováním abundance hrubého (dafniového) zooplanktonu se určí délka odchovu. V případě jeho vymizení je vhodné plůdek urychleně slovit jinak se nevyhneme následnému kanibalismu. Hektarový výnos je značně variabilní pohybující se v rozmezí 50 až 150 tis. ks a závisí hlavně na dostatku potravy a teplotě vody (Klimeš a Kouřil, 2003).

#### 2.2.1.2. Odchov urychleného plůdku do stáří ročka

Tato metoda se praktikuje hlavně ve Švédsku a Finsku, ale také v Německu, kde je poptávka po ročním plůdku loveném na podzim nebo až v roce následujícím na jaře (Wysujack a kol., 2002). Steffens a kol. (1996) a Musil a Kouřil (2006) zdůrazňují, že pokud zamýšlíme chovat candáta do stádia ročka, musíme rybník zásobovat krmnou rybou vhodné velikosti a v dostatečném množství (osvědčil se plůdek lína obecného nebo střevlička východní). Musil a Kouřil (2006) dále upozorňují, že je vhodné znát reprodukční biologii krmné ryby (střevlička východní se vytírá v našich podmínkách až 5 krát ročně) a je vhodné zvolit účinnou metodu; 1. rybník je od počátku nasazen potravní rybou, 2. přísazování potravní ryby v průběhu odchovu a 3. kombinace obou metod.

#### 2.2.1.3. Produkce plůdku candáta v polykultuře

Tento způsob odchovu je v České republice hojně praktikován vzhledem k vysokému počtu rybníků, kde se jako hlavní ryba chová kapr obecný. Existuje několik možností jak chovat plůdek candáta v polykultuře: 1. Přisazování generačních ryb s následným očekávaným výtěrem. 2. Nasazení hnízd s oplozenými jikrami nebo rozplavaného plůdku 3. Přisazení plůdku urychleného (Musil a Kouřil, 2006). Hlavním požadavkem je, aby plůdek dosáhl do podzimu alespoň 10 centimetrů a zajistit vhodné kyslíkové a potravní poměry pro růst candáta (Steffens a kol., 1996). Nevýhodou při této produkci plůdku candáta je vyžírání tlak hlavní chované ryby, což má za následek omezenou potravní základnu pro plůdek candáta. Může dojít i k jeho hladovění (Steffens a kol., 1996). Při tomto způsobu chovu je velmi důležité zvolit správnou

techniku výlovu, jelikož plůdek candáta musí být sloven jako první. Využívá se noční poproudové migrace plůdku candáta (Steffens a kol., 1996). Plůdek se chová většinou do podzimu, ale při možnosti komorování a při zajištění dostatečného množství krmné ryby se může odchov prodloužit, až do dalšího roku na podzim kdy dvouletý candát dorůstá hmotnosti až 600g (Berka a Hamáčková, 1980). Tato metoda odchovu plůdku se vyznačuje jak po kvalitativní, tak po kvantitativní stránce nevyrovnaností a lze jí doporučit hlavně za účelem potlačení, nebo úplné redukce obsádek nežádoucích nebo nepůvodních druhů ryb, které působí velké ztráty při chovu kapra (Musil a Kouřil, 2006).

### 2.2.2. Rybníční odchov pro intenzivní akvakulturu

Tento technologický postup chovu zahrnuje umělý nebo poloumělý výtěr rybníčních generačních ryb, umělou inkubaci jiker a následně odchov larev a juvenilních ryb v rybnících. Dále následuje převoz juvenilních ryb (rychleného plůdku) candáta do recirkulačního systému a jejich následná adaptace na suché peletované krmivo (Policar a kol., 2011, Stejskal a kol., 2010).

Je nutné rybníky před samotným odchovem nahnojit kompostem, sledovat a udržovat optimální potravní nabídku, v případě nedostatku ihned podpořit výskyt vhodných potravních organismů, nebo odchov ukončit šetrným slovením rychleného plůdku (Policar a kol. 2011, Stejskal a kol., 2010).

#### 2.2.2.1. Vliv litorální vegetace na rychlost růstu rychleného plůdku candáta

Bylo zjištěno, že litorální vegetace poskytuje odchovávaným candátům bohatší potravní nabídku v pozdější fázi odchovu, kdy tvoří fytofilní organismy (např. larvy pakomárů) významnou část potravy, což významným způsobem ovlivňuje růst a vyšší celkovou produkci juvenilních ryb (Policar a kol., 2011; Stejskal a kol., 2010). Policar a kol. (2011) dále zjistili, že rychlost růstu rychleného plůdku candáta je závislá na velikosti rybníka. V menších rybnících (0,08-1,5 ha) rostl rychlený plůdek lépe než ve větších, což bylo pravděpodobně způsobeno větší členitostí břehů a jejich větším podílem k vodní ploše.

#### 2.2.2.2. Odlov juvenilních ryb

Správný výlov juvenilních ryb je jedním z nejdůležitějších technologických kroků odchovu. Rybník by měl být rychle vypustitelný, nejlépe do 24 hodin. Využívá se odlovu juvenilních ryb pod hrází do podložních sítí nebo beden. Velmi důležité je průběžné šetrné odlovování ryb z podložních sítí aby nedošlo k jejich fyzickému vyčerpání a následnému umačkání. Stejně fyzikálně-chemické parametry vody jako v odchovném rybníku jsou důležité pro bezpečný převoz ryb v transportních nádržích (Stejskal a kol., 2010, Policar a kol., 2011).

#### 2.2.3. Odchov larválního a juvenilního stádia candáta v kontrolovaných podmínkách

Szkudlarek a Zakeš (2007) popsali při odchovu plůdku během prvních 5 týdnů 3 kritické fáze odchovu: 1. Přechod plůdku z endogenní výživy na výživu exogenní

2. Syndrom nenaplňování plynového měchýře

3. Kanibalismus

##### 2.2.3.1. Potravní adaptace na kontrolované podmínky prostředí

V intenzivních podmínkách prostředí je velmi důležité adaptovat plůdek na startérová krmiva. Ve většině případů se k tomuto účelu využívá plůdek nejprve odchovaný v rybníce a následně se převádí na umělou dietu. Celková úspěšnost převodu závisí na přežití plůdku a pohybuje se v rozmezí 24-80 %, nejčastěji 50 % (Ljunggren a kol., 2003; Baránek a kol., 2004; Molnár a kol., 2004b).

K převodu plůdku candáta na suchou krmnou směs se používá nejčastěji startérových krmných směsí pro pstruha duhového (protein přes 50 %, tuk 13-20 %, velikost 0,5-0,8 mm). Toto krmivo je pro plůdek candáta nevhodné, protože nesplňuje jeho nutriční požadavky. Velký podíl tuku a vysoký obsah energie v krmivu se může negativně projevit zvýšením obsahu tuku ve svalovině a vnitřních orgánech (Baránek a kol., 2006) a může vést až k hypertrofii jater (Kestemont a kol., 2001).

##### 2.2.3.1.2. Metody převodu plůdku candáta na umělé krmivo

Pokud se chová plůdek candáta zpočátku v recirkulačním systému, používá se většinou pro jeho rozkrm živá potrava (zooplankton- vířníci nebo žábřonožky, larvy pakomárů nebo nitěnky). V další fázi odchovu se využívá postupného nahrazování živé

potravu umělou dietou (co-feeding)(Molnár a kol., 2004b; Hamza a kol., 2007; Stejskal a kol., 2010). Bódis a kol. (2007) krmili juvenilní candáty živou potravou ve 4 variantách: larvy pakomárů, nítěnky, dafnie a přímý převod na suchou dietu. Nejvyšší specifické rychlosti růstu dosáhli candáti krmení larvami pakomárů a nítěnkami (4,2 %), tyto dvě skupiny měly také nejvyšší přežití plůdku ( $86.7 \pm 9 \%$  a  $78 \pm 4 \%$ ). Baránek a kol. (2007) zjistili, že část juvenilních candátů, kteří byli krmeni larvami pakomárů, nezačala přijímat suché krmivo.

Další možností je převod plůdku přímo na suchou směs (Ostaszewska a kol., 2005). Přímý přechod na suchou dietu nepřináší uspokojivé výsledky z hlediska přežití a procenta jedinců adaptovaných na příjem suché směsi (Xu a kol., 2003, Stejskal a Kouřil, 2006). Baránek a kol. (2007) prokázali, že je možné převést plůdek candáta přímo na suchou dietu, ale s nižším přežitím (25,1 %), než s využitím larev pakomárů (27,9 %). Ostaszewska a kol. (2005) dosáhli při použití 2 suchých krmných směsí podobných výsledků (28,4 % a 21,6 %).

K převodu plůdku candáta je také možné využít polovlhké krmné směsi. Molnár a kol. (2004 a) použili k převodu plůdku candáta směs mletého rybiho masa. K výrobě polovlhké krmné směsi je také možné využít bramborový škrob (Policar a kol, 2009), nebo směs zooplanktonu a vaječného žloutku (Ljunggren a kol., 2003). Stejskal a kol., (2007) zjistili, že je výhodné zvlhčit krmnou směs vodou a po krátkém časovém intervalu jí aplikovat rybám. Baránek a kol. (2006) dosáhli při použití polovlhké krmné směsi nejhorších výsledků a to je přičítáno tzv. fenoménu dvojího převodu, kdy ryby zvyklé přijímat polovlhkou krmnou směs následně odmítají přijímat suché krmivo respektive částice suchého krmiva jsou zpočátku přijímány a následně vyvrhovány. Důvodem tohoto chování může být větší potravní atraktivnost polovlhké směsi; částice polovlhké směsi je větší, měkčí a čerstvé rybí maso jí přidává na chutnosti.

## **2.3. Vývoj trávicího traktu candáta obecného**

### **2.3.1. Trávicí trakt ve fázi endogenní výživy**

Po vykulení larev candáta zůstává ústní dutina a žaludek uzavřená, ústní dutina a jícn jsou zpočátku vystlány kubickým epitelem, ve třetím dni se změní v mnohvrstvý skvamózní epitel. Žaludek je nediferenciovaný a není napojen na střevo, zpočátku je také vystlán nepravidelným kubickým epitelem, který je pak nahrazen druhý den



jednovrstevným cylindrickým epitelem. Nediferenciovaná játra a pankreas jsou separovány od žloutkového váčku syncytiální membránou. Třetí den je vystlán žaludek prvotní sliznicí a začíná růst jater (Ostaszewska, 2005).

### 2.3.2. Trávicí trakt při kombinované výživě (žloutkový váček + exogenní výživa)

Larvy candáta obecného začínají přecházet na exogenní výživu mezi 5.-7. dnem po vykulení, tento přechod je pozvolný a stále ještě využívají k výživě žloutkový váček. Při teplotě 20°C byly žloutkové rezervy vyčerpány do 6. dne. 5. dne je patrný prvotní žaludek. Celková délka těla (*l.t.*) je 6mm, třetí den se otvírá ústní dutina a žaludek je připojen k přednímu střevu. Živiny z potravy jsou nejdříve vstřebávány pinocitózou, než dojde k dokončení vývoje trávicího traktu. Buňky skvamózního epitelu jícnu začnou sekreci glykoproteinů. Zvětší se objem jater a vyvíjí se cévní zásobení orgánů. Začíná se ukládat glykogen. Je možné pozorovat exokrinní aktivitu pankreatu a 5. den se objevují první proenzymová granula, jejichž počet do 7. dne výrazně vzroste a objeví se Langerhansovy ostrůvky. 6.-7. den je pankreas spojen s játry žlučovodem, je vidět žlučník a začíná sekreci trávicích enzymů. Mezi 7. a 15. dnem je už obsah žloutkového váčku značně vyčerpán, střevo je jasně rozděleno na přední a zadní a vytvoří se řitní otvor, prodlužuje se jícen. 7. dne se začínají ukládat lipidy v játrech a během 9.-10. dne se sníží exokrinní aktivita pankreatu. 13. dne jsou patrné první zuby a chuťové pohárky. 15.-20. dne (*l.t.*= 8mm) se dochází k vývoji pohárkových buněk v žaludku a začíná vývoj žaludeční žlázy. Prodlužuje se střevo a je možné pozorovat první střevní kličku. 20. dne je už žaludek morfologicky vyvinutý (Ostaszewska, 2005).

### 2.3.3. Trávicí trakt v juvenilní periodě

Mezi 20.-30. dnem měří plůdek 15-31 mm (*l.t.*). Vícevrstevný skvamózní epitel v zadní části jícnu je nahrazen vícevrstevným kubickým epitelem, žaludek je rozdělen na 3 části a žlázy zodpovědné za sekreci žaludeční šťávy už jsou vyvinuté a schopné produkovat pepsinogen mezi 25. a 30. dnem. Ve střevě jsou již vytvořeny příčné střevní řasy, z nichž nejdelší se vyskytují v přední části střeva. V 30. dni je možné pozorovat exokrinní pankreatickou tkáň kolem portálních jaterních tepen. Langerhansovy ostrůvky jsou přítomny v celé tkáni jater. Histochemická a histologická analýza odhalila, že vývoj trávicího traktu u candáta obecného je dokončen dříve než je dokončena celková metamorfóza těla. Larvální stádium a juvenilní stádium se liší anatomicky pouze

přítomností pylorických klků, délkou střeva a vyvinutou žaludeční žlázou (Ostaszewska, 2005).

#### 2.3.4. Dynamika sekrece enzymů během vývoje trávicího traktu

Pro okounovité ryby je charakteristický nedostatečný vývoj gastrointestinálního traktu v prvních dnech po vykulení. Larvy mají nedostatečně vyvinuté střevo a žlázy produkující enzymy v nedostatečném množství a neprodukují zpočátku všechny endogenní trávicí enzymy (absence pepsinu podílejícího se na trávení bílkovin, jehož aktivita byla u okouna zaznamenána až 29. dne) narozdíl od lososovitých ryb, které je možné od počátku rozkrmovat startérovými směsmi. Živá potrava je pro okounovité ryby zpočátku odchovu nezastupitelná (Zakeš, 1999; Cuvier-Péres a Kestermont, 2002).

Sekrece enzymů je závislá na potravě a jejím nutričním složení, ale také na době přechodu na exogenní způsob výživy. U larev candáta po prvním příjmu exogenní potravy se setkáváme s počátečním nárustem sekrece pankreatických enzymů (amyláza) a střevních enzymů (leucin-alanin peptidáza a aminopeptidáza) a následně náhlým poklesem jejich sekrece (5. den)(Cuvier-Péres a Kestemont, 2002; Hamza a kol., 2007). U trypsinu nebyly pozorovány tyto výkyvy v sekreci a jeho aktivita až do 9. dne byla víceméně konstantní. Od 15. dne bylo možné pozorovat jeho prudký nárůst. Mezi 15.-21. dnem sekrece některých enzymů klesá (leu-ala peptidáza) a zároveň vzrůstá sekrece jiných enzymů (aminopeptidáza a alkalická fosfatáza). Vzrůst sekrece těchto enzymů značí postupný vývoj a aktivitu střeva. Sekrece amylázy po poklesu zůstala konstantní až do 36. dne (Hamza a kol., 2007).

Hamza a kol. (2008) prokázali, že na sekreci alkalické fosfatázy a následně na vývoj střevních buněk mají vliv fosfolipidy. Při krmení larev candáta dietami s různým obsahem fosfolipidů bylo nejlepších výsledků dosaženo při krmení diet s obsahem 5% a 9% tuku, což odpovídá nízkým nutričním požadavkům candáta na obsah tuku.

## 2.4 Nutriční požadavky plůdku candáta

### 2.4.1. Proteiny

Proteiny jsou jednou z hlavních složek krmiva pro ryby. Proteiny obsahují esenciální a neesenciální aminokyseliny potřebné k optimálnímu růstu ryb, v případě že

protein není spotřebován k energetickým účelům. Larvální stádium má vyšší požadavky na protein než juvenilní stádium. Při odchovu candáta severoamerického (*Sander vitreum*) bylo zjištěno, že optimální obsah proteinu pro larvální stádium (8g) je  $510 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a pro juvenilní stádium je vhodný obsah proteinu  $420 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Brown a Barrows, 2002). Nyina-Wamwiza a kol. (2005) zkoumali vliv různých diet na růst juvenilního candáta obecného (51,1g), jeho složení těla a nutriční využití proteinů, lipidů a karbohydrátů. Dospěli k závěru, že nejlepší krmivo jednak z hlediska nákladů a efektivity, ale také z pohledu živinového složení je pro juvenilního candáta s obsahem proteinů 43 % ( $430 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Schultz a kol. (2007) se zabývali optimálním obsahem proteinu pro larvální stádium candáta obecného ( $1,05 \pm 0,05 \text{ g}$ ) a stanovili optimální obsah proteinů v krmivu v rozmezí od  $529 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  do  $577 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

#### 2.4.2. Lipidy

Lipidy (z řeckého *lipos* tj. tučný) jsou přírodní látky živočišného i rostlinného původu. Chemicky se jedná o estery vyšších mastných kyselin (nasyčených i nenasycených). Jedná o deriváty vyšších mastných kyselin a jednosytného nebo trojsytného alkoholu. Lipidy plní v organismu jednak funkci strukturní (součást buněčných membrán) a jednak funkci energetickou; poskytují více energie než proteiny nebo sacharidy ( $38,5 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

##### 2.4.2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou organické, karboxylové kyseliny s alifatickým řetězcem, který může být nasycený (bez dvojných vazeb) nebo nenasycený (s dvojnými vazbami). Nenasycené mastné kyseliny se dále dělí podle stupně jejich nasycení na mononenasycené (MUFA), které obsahují jednu dvojnou vazbu a polynenasycené (PUFA), které obsahují dvě a více dvojných vazeb. Lze se setkat ještě s označením HUFA, což jsou vysoce nenasycené mastné kyseliny s 20 a více atomy uhlíku a se třemi a více dvojnými vazbami (Tocher, 2010).

PUFA obsahují dvě skupiny mastných kyselin, které si ryby nedokáží vytvořit ve vlastním metabolismu, a proto jsou esenciální. Skupina omega 6 mastných kyselin vzniká z kyseliny linolové (18:2 n-6; LA) a skupina omega 3 mastných kyselin vzniká z kyseliny  $\alpha$ -linolenové (18:3 n-3; ALA). Tyto dvě kyseliny musí být přijaty v krmivu, protože je dokáží vytvořit pouze rostliny. LA i ALA jsou dále metabolizovány na

HUFA působením enzymů desaturáz a elongáz. Nejznámější zástupci HUFA jsou kyselina eikosapentaenová (20:5 n-3; EPA) a kyselina dokosahexaenová (22:6 n-3; DHA).

Z omega-3 mastných kyselin vznikají v těle další produkty, souhrnně označované jako eikosanoidy (prostaglandiny, tromboxany, leukotrieny). Vedle jiných funkcí mají tyto látky v těle roli protizánětlivých spouštěčů (Tocher, 2010).

#### 2.4.2.1.2. Požadavky larev a juvenilních ryb na obsah esenciálních mastných kyselin

Wirth a kol., (1997) zjistili, že nutriční požadavky larválního stádia pstruha duhového se liší od požadavků juvenilního stádia především ve vyšším zastoupení vysoce nenasycených mastných kyselin a zvláště vyšším zastoupení kyseliny dokosahexaenové.

Požadavky juvenilních ryb na obsah esenciálních mastných kyselin jsou u různých druhů odlišné; předpokládá se, že u sladkovodních druhů ryb jsou nejdůležitější 18:3 (n-3) a 18:2 (n-6). Sladkovodní ryby se dělí na 3 skupiny podle různých požadavků na esenciální mastné kyseliny: studenomilné ryby včetně salmonidů vyžadují především 18:3 (n-3) mastné kyseliny, teplomilné druhy ryb vyžadují hlavně 18:2 (n-6) mastné kyseliny a třetí skupina ryb potřebuje v různém poměru obě skupiny těchto mastných kyselin. Do třetí skupiny ryb můžeme zaředit například kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*). Esenciální mastné kyseliny by měly být v krmivu u většiny sladkovodních ryb zastoupeny alespoň 1 % suché hmotnosti krmiva (Tocher, 2010).

Bylo zjištěno, že sladkovodní ryby jako štika obecná nebo pstruh duhový dokáží elongovat a desaturovat kyselinu  $\alpha$ -linolenovou (18:3 n-3; ALA) na vysoce nenasycené mastné kyseliny (Buzzi a kol. 1996, Buzzi a kol, 1997). Lund a kol., 2012 zjistili, že larvy candáta nebyly schopné přeměnit kyselinu  $\alpha$ -linolenovou na vyšší mastné kyseliny.

Mořské ryby nedokáží syntetizovat vysoce nenasycené mastné kyseliny z rostlinných zdrojů (Schultz a kol., 2005). U mořských ryb nestačí na pokrytí nutričních požadavků pouze mastné kyseliny s 18 uhlíkatým řetězcem, ale vyžadují oproti sladkovodním rybám v krmivu zvýšený obsah EPA a DHA (Tocher, 2010).

### 2.4.3. Důležitost mastných kyselin ve výživě larválního stádia candáta obecného

Larvy candáta po vykulení využívají jako metabolický substrát HUFAs (zvláště EPA a DHA) a MUFA, následně narůstá obsah satureovaných mastných kyselin (Abi Ayad a kol., 2004; Lund a Steinfeldt, 2011). Mastné kyseliny a lipidy jsou zásadní látky pro energetický metabolismus u většiny larválních stádií ryb (Bell a Tocher, 1989). Vysoce nenasycené mastné kyseliny především kyseliny eikosapentaenová (EPA), dokosahexaenová (DHA) a arachnidonová (ARA) jsou důležité v procesu organogeneze a účastní se tvorby buněčných membrán. Ovlivňují membránový transport, aktivitu enzymů a funkci receptorů (Bell a Tocher, 1989). Lund a kol., 2012 zjistili, že ryby, které měly v těle nejvyšší obsah kyseliny dokosahexaenové byly nejméně citlivé na stres.

## 2.5. Syndrom nenaplňování plynového měchýře (NGB ; non-gas bladder)

### 2.5.1. Příčiny nenaplňování plynového měchýře

Syndrom nenaplňování vzduchového měchýře je v literatuře popisován jako neschopnost larev prorazit povrchovou blanku ve vodě s vyšším povrchovým napětím. S tímto jevem se větší míře můžeme setkat u recirkulačních systémů, kde se jako pravděpodobná příčina jeví uvolnění mastných látek z krmiva do vody, čímž se zvýší povrchové napětí (Boggs a Summerfeld, 2003). Bylo zjištěno, že tento jev se vyskytuje i ve volných vodách, kde se vyskytuje u 0,1- 7,9 % ryb (Egloff, 1996). Při chovu v kontrolovaných podmínkách prostředí bylo zaznamenáno, že při perforaci povrchové blanky vody, nutné pro naplnění plynového měchýře, ryby požíly velké množství organického materiálu plovoucího na hladině. Organické znečištění a následný rozvoj bakterií v plynovém měchýři jsou potenciálním zdrojem infekce. U ryb s naplněným plynovým měchýřem bylo toto také prokázáno, ale v menším množství než u ryb s nenaplňovaným vzduchovým měchýřem (Demska-Zakeš a kol., 2003; Marty a kol., 1995).

### 2.5.2. Funkce plynového měchýře a jeho anatomie u okounovitých ryb

Plynový měchýř (*vesica natatoria*) je specializovaný rybí orgán, který plní zejména hydrostatickou funkci, spočívající ve vyrovnávání tlaku plynu v těle s vnějším tlakem vody v různých hloubkách. Plynový měchýř je nepárový orgán rozličného tvaru,

je umístěn v dorzální části břišní dutiny mezi ledvinami a zažívacími orgány. Plynový měchýř ryb vzniká během embryonálního vývoje jako vychlípenina dorzální stěny jícnu, s nímž zůstává spojen kanálkem (*ductus pneumaticus*). U okounovitých (*Perciformes*) *ductus pneumaticus* postupně zaniká a spojení plynového měchýře s trávicím traktem během juvenilního období mizí. Tyto ryby jsou označovány jako *Physoclisti*. Skupina ryb *Physoclisti* má v larválním stadiu funkční *ductus pneumaticus*, který slouží k naplnění vzduchového měchýře a tyto ryby musí pro první naplnění plynového měchýře prorazit povrchovou blanku vody a polknout atmosférický vzduch. Po zániku *ductus pneumaticus* je naplnění plynového měchýře nemožné (Hoffman a Novák, 1996). Narozdíl od okounovitých ryb je u salmonidů (*Salmonidae*) možné naplnění plynového měchýře v intervalu 3 měsíců od vylíhnutí. *Ductus pneumaticus* zůstává v tomto období otevřený (Tait, 1960).

Prostupnost plynů do plynového měchýře je zajištěna krevními kapilárami (*rete mirabile*) pomocí plynové žlázy. Resorbce plynu z plynového měchýře je zajišťována krevní cestou pomocí tzv. oválného okénka. Funkce oválného okénka je taktéž řízena sítí krevních kapilár v dorzokaudální části plynového měchýře. Přívod krve je zajišťován mezižeberními artériemi. Resorbci plynů reguluje svalový svěrač oválného okénka (Hoffman a Novák, 1996).

### 2.5.3. Vývoj plynového měchýře u candáta obecného a candáta východního

Časový interval, kdy se začíná objevovat plynový měchýř u larválního stádia okounovitých ryb je závislý na teplotě vody (Demska-Zakeš a kol., 2003; Barrows a kol., 1988; Marty a kol., 1995). Při teplotě vody 19,6 °C bylo možné pozorovat prvotní plynový měchýř u candáta obecného mezi třetím a čtvrtým dnem po vykulení (Demska-Zakeš a kol., 2003), u candáta východního (*Sander vitreum*) při teplotě 21 °C byl pozorován v pátém dni (Barrows a kol., 1988) a při nižší teplotě 15,2- 19 °C až v šestém dni (Marty a kol., 1995). V dalších dnech dochází k jeho naplňování a postupně zaniká *ductus pneumaticus*. U candáta východního i candáta obecného dochází k tomuto procesu přibližně ve stejném období. Naplňování může probíhat až do 12. dne a po 13. dni larvy ztrácí schopnost naplnění plynového měchýře, ačkoliv u larev s nenaplňným plynovým měchýřem je možné *ductus pneumaticus* pozorovat i po tomto termínu. (Demska-Zakeš a kol., 2003; Marty a kol., 1995).

#### 2.5.4. Možná řešení ke snížení vlivu NGB

Při chovu v intenzivních podmínkách se doporučuje udržovat hladinu vody čistou a zajistit snížení povrchového napětí pomocí různých technologií. K tomu účelu se mohou použít modifikované přítoky či rozprašovače vody, které mají zajistit rozstříkávání vody na co nejmenší kapky (Barrows a kol., 1993). Boggs a Summerfeld (2003) použili při odchovu larev candáta východního sběrače tuku, aby tak snížili povrchové napětí vody způsobené látkami lipidového charakteru. Nevýhodou této technologie je každodenní odebírání lipidové vrstvy a účinnost je o 20,6 % horší než při použití rozprašovače.

Jacquemond a kol. (2004 a) aplikovali technologii, která se neuplatňuje ve snížení vlivu NGB, ale používá se k separaci ryb s naplněným a nenaplněným plynovým měchýřem. Princip spočívá v použití chloridu sodného pro zvýšení hustoty vody a anestetika. Ryby s naplněným plynovým měchýřem vyplavou na hladinu díky nižší hustotě těla než slaná voda. Ryby s nenaplněným měchýřem zůstanou ležet na dně, protože mají stejnou nebo vyšší hustotu těla než slaná voda. Anestetikum se používá pro znehybnění ryb. Ryby s nenaplněným měchýřem se pak mohou eliminovat z chovu, nebo se chovají odděleně jako v případě okouna říčního ve studii Jacquemond a kol. (2004b), kdy bylo zjištěno pozdější naplnění plynového měchýře u části obsádky. U juvenilních ryb s nenaplněným měchýřem se vyskytovala lordóza a 95% mortalita.

#### 2.5.5. Důsledky způsobené NGB

Larvy s nenaplněným plynovým měchýřem se mohou vyznačovat malformacemi páteře, především lordózou. Vynakládají více energie potřebné k plavání, než larvy s naplněným měchýřem, špatně rostou, stávají se snadnější kořistí kanibalů (Demska-Zakeš a kol., 2003).

### 2.6. Kanibalismus

Kanibalismus u okounovitých ryb (*Percidae*) je jedním z negativních jevů se kterým se při odchovu potýkáme. Ranný kanibalismus se u candáta objevuje při velikosti plůdku 15 mm (Szkudlarek a Zakeš, 2007). Kanibalismus je rozdělen na 2 skupiny: u kanibalismu prvního typu je kořist požřena částečně a kanibal se zadusí. Kanibalové druhého typu se objevují později a požírají svou kořist celou (Baras a kol.,

2003; Kestemont a kol., 2003). U okouna byl kanibalismus prvního typu prokázán mezi 12.-14. dnem po vykulení a začátek kanibalismu druhého typu bylo možné pozorovat mezi 14. až 18. dnem po vykulení (Baras a kol., 2003). Intenzita kanibalismu a typ kanibalismu je určen velikostním poměrem mezi ústní dutinou kanibala a velikostí jeho kořisti (Smith a Reay, 1991).

### 2.6.1. Příčiny kanibalismu

#### 2.6.1.2. Heterogenita obsádky

Za hlavní příčinu kanibalismu se považuje velikostní heterogenita obsádky (Kestemont a kol., 2003; Steinfeldt a kol., 2010). Velikostní heterogenita obsádky může být způsobena individuálními růstovými schopnostmi jedinců stejně tak jako podmínkami prostředí, ve kterém žijí (Kestemont a kol., 2003).

Heterogenitu obsádky mohou ovlivnit tyto aspekty: teplota vody, délka dne, intenzita světla, dostupnost potravy a její složení, hustota obsádky, počáteční heterogenita obsádky, doba inkubace (Kestemont a kol., 2003). Adamek a kol. (2011) doporučují pro snížení heterogenity obsádky vytírat stejně staré generační ryby.

#### 2.6.1.3. Vliv různé doby inkubace na kanibalismus

Larvy candáta, které začnou přijímat potravu nejdříve obvykle porostou nejrychleji ve srovnání se zbytkem obsádky (Steenfeldt a kol., 2010). Rychlejší vývoj jedince ještě ve fázi výživy ze žloutkového vaku je ovlivněn vlastním metabolismem jedince (Kamler, 2008). Doba inkubace významně ovlivňuje žloutkové rezervy plůdku a déle inkubované larvy candáta začínají přijímat potravu později (Steenfeldt a kol. 2010). Větší larvy se vyznačují vyšší odolností k hladovění, vyšším predačním tlakem a je menší šance že se stanou kořistí (Adamek a kol., 2011). Kestemont a kol. (2003) pozorovali sníženou konkurenceschopnost v příjmu potravy u déle inkubovaných larev než u krátkodobě inkubovaných, avšak nepovažují to za příčinu kanibalismu.

#### 2.6.1.4. Vliv hustoty obsádky na projevy kanibalismu

Kestemont a kol. (2003); Szkudlarek a Zakeš (2007) zjistili, že na kanibalismus může mít vliv i počáteční hustota obsádky. Vysoká nebo střední hustota obsádky v larválním stádiu může potlačit teritoriální chování ryb, pokud je teritorialita hlavním spouštěčem kanibalistického chování (Melárd a kol., 1996; Kestemont a kol., 2003).



Skudlarek a Zakeš (2007) doporučují na litr počáteční hustotu 100 kusů plůdku až do 18. dne po vykulení, od 19. dne je vhodné snížit hustotu obsádky na 15 kusů plůdku na litr. Policar a kol. (2013) nenašli žádný vztah mezi počáteční hustotou obsádky a kanibalismem.

#### 2.6.2. Možnosti snížení vlivu kanibalismu

Kestemont a kol. (2003) doporučují pro snížení vlivu kanibalismu kratší dobu inkubace, která má za následek vyšší růst a přežití plůdku. Dále je vhodné při odchovu larev udržovat vyšší intenzitu světla a naopak snížit intenzitu světla u juvenilů.

Kestemont a kol. (2003) dále doporučují snížit teplotu vody. Nižší teplota způsobuje sice pomalejší růst obsádky a zároveň pomalejší přechod ke kanibalismu druhého typu.

Szczepkowski a kol. (2011); Kestemont a kol. (2003); Mélard a kol. (1996); Policar a kol. (2012) doporučují časté třídění ryb pro snížení míry kanibalismu. Na odstraňování kanibalů z obsádky jsou rozporuplné názory: Policar a kol. (2013) udává, že odstraňování kanibalů po přechodu na exogenní výživu mělo vliv na snížení kanibalismu. Podle Kestemonta a kol. (2003) časté odebrání kanibalů nezlepšilo přežití ani růst, pravděpodobně proto, že se vytvořila nová hierarchie kanibalů, kteří si vytvořili nová teritoria. Místo odebrání kanibalů Kestermont a kol. (2003) doporučují častější třídění v juvenilní periodě a v larválním stádiu doporučují ryby netřídít.

### 2.7. Rod žábřonožka (*Artemia*)

#### 2.7.1. Taxonomické členění

říše *Animalia* - živočichové

kmen *Arthropoda* - členovci

třída *Branchiopoda* - lupenonožci

řád *Anostraca* - žábřonožky

čeleď *Artemiidae* – žábřonožkovití

### 2.7.2. Životní prostředí artemie

Životní prostředí žábřonožek typicky vykazuje malou druhovou diverzitu, absenci predátorů a potravních konkurentů. Artemie se vyskytuje v biotopech, kde salinita dosahuje až  $70 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  a může přežít i v prostředí, kde se salinita pohybuje okolo  $250 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pokud je salinita vyšší tak artemie v důsledku fyziologického stresu a toxicity umírá. Z důvodu vysoké salinity vody tvoří na některých lokalitách žábřonožka monokulturu. Salinita je zásadní životní faktor pro život artemie a determinuje její výskyt a abundanci v prostředí (Van Stappen, 1996).

Artemie se vyskytuje převážně v tzv. thalassohaliních jezerech, která vznikají odparem mořské vody. Iontové složení vody v těchto jezerech je velmi podobné mořské vodě. Většina thalassohaliních jezer vzniká při pobřeží moře, ale můžeme se setkat i s jezery ve vnitrozemí jako je například Velké Solné jezero v Utahu.

Dalším biotopem, kde se žábřonožky vyskytují, jsou vnitrozemská athalassohaliní jezera. Iontové složení těchto jezer se výrazně liší od mořské vody. Ve vodě převažují různé prvky: sulfátové vody (Chaplinovo jezero, Saskatchewan), vody s převahou uhlikatých sloučenin (jezero Mono, Kalifornie) a jezera se zvýšeným obsahem draslíku (několik jezer v Nebrasce)(Van Stappen, 1996).

#### 2.7.2.1. Geografické rozšíření

Populace artemie se vyskytují přibližně v 500 přírodních slaných jezerech a v oblastech těžby soli z odpařovacích nádrží v důsledku cílené introdukce člověkem v tropickém, subtropickém a mírném pásu v příbřežních mořských oblastech stejně tak jako ve vnitrozemí. Rozšíření artemie je diskontinuální; ne všechny hyper-salinní biotopy jsou osídleny artemií (Van Stappen, 1996).

Druhy obývající různá geografická pásma mají odlišné nároky na teplotu vody, která se může pohybovat v rozmezí  $6-35^\circ \text{C}$  stejně tak jako odlišné nároky na salinitu a iontové složení vody (Van Stappen, 1996).

### 2.7.3. Historie využití žábřonožky solné v akvakultuře

Žábřonožka solná (*Artemia salina*) byla poprvé popsána Schlösserem v roce 1755, který našel žábřonožku ve slaném anglickém jezeře Lymington a pak Carlem

Linné v jeho knize *Systema Naturae* roku 1758. Tato populace je v dnešní době vyhynulá, nicméně se tímto termínem žábřonožky stále označují (Baas-Becking, 1931).

První využití žábřonožky pro intenzivní akvakulturu se datuje do 30. letech 20. století, kdy bylo zjištěno, že žábřonožka je velmi vhodným živým krmivem pro rozkrm raných stádií ryb a larválních stádií korýšů. S růstem produkce akvakultury během 60.-70. let minulého století se rozšířilo i využití žábřonožky. Žábřonožka sice není pro mnoho ryb přirozeným zdrojem potravy, nicméně její snadné použití v podmínkách intenzivní akvakultury je velkou výhodou. Zvláště se jedná o dlouhou dobu skladovatelnosti trvalých vajíček v suchém prostředí, z kterých je možné po 24 hodinách inkubace získat živou potravu (Sorgeloos a kol. 1998). Proces inkubace trvalých vajíček žábřonožky je pracovně nenáročný, což z ní činí nejvhodnější živé krmivo pro rozkrm krabů, ryb, ústřic a humrů. (Léger a kol., 1986). Zásobování trhu žábřonožkou během pozdních 70. let nebylo spolehlivé kvůli vzrůstající poptávce a značně se lišícím výnosům v rámci jednotlivých nalezišť, které značně ovlivnily celkovou produkci. To mělo za následek prudký vzestup cen (Léger a kol., 1986). Na růst ceny artemie měly vliv i další faktory; artemie z různých oblastí se liší kompozicí aminokyselin, obsahem mastných kyselin, metabolismem látek v závislosti na potravě kterou tvoří převážně jednobuněčné řasy. Kvalitnější cysty z hlediska biochemického složení jsou produkovány ve vnitrozemských jezerech (hlavně Velké Solné jezero v Utahu), ale bohužel produktivita těchto vod je malá a nestačí uspokojit poptávku trhu (Van Stappen, 1996). V reakci na neuspokojivé biochemické složení artemie se začaly v 90. letech rozvíjet metody obohacení žábřonožek (bioenkapsulace), kvůli jejich nedostatečné nutriční hodnotě zvláště pro mořské druhy ryb (Sorgeloos a kol. 1998).

#### 2.7.4. Reprodukční biologie artemie

Rod *Artemia* se rozmnožuje dvojím způsobem: bisexuálně nebo parthenogeneticky v závislosti na podmínkách prostředí. Artemie se rozmnožují buď ovoviviparií při vhodných podmínkách prostředí a v tomto případě se rodí živá nauplia I. řádu, nebo ovoparií při nevhodných podmínkách prostředí (vysoká salinita, velké výkyvy obsahu kyslíku ve vodě, nedostatek potravy), kdy jsou produkována metabolicky neaktivní trvalá vajíčka nazývané též cysty (Criel a Macrae, 2002). Tyto trvalá vajíčka se nacházejí v diapauze a plovoucí na hladině a následně jsou vyhazována větrem a vlnami na břeh. Trvalá vajíčka přetrvávají v suchém stavu až do opětovné

hydratace ve vodě, kdy dochází k opětovné aktivaci jejich metabolismu. Zhruba za 15-20 hodin vnější obal praská a objevuje se embryo obklopené průhlednou membránou. Zatímco embryo visí připojené k vnějšímu obalu, dokončuje se jeho vývoj (embryonální stádium „umbrella“) a po protržení membrány dochází k vylíhnutí naupliové larvy (nauplius I. instaru). Čerstvě vylíhlá nauplia nepřijímají potravu a spotřebovávají pouze žloutkové rezervy, protože jejich trávicí soustava není ještě plně vyvinuta. Zhruba za 8-12 hodin vývoje přechází nauplia do 2. larvální fáze (stádium II. instaru), kdy mají plně funkční trávicí trakt a přijímají potravu (mikroskopické řasy, bakterie, detrit). Nauplia rostou a vyvíjejí se v několika dalších vývojových stádiích a přibližně za 8 dní se stávají dospělci. Samci jsou menší než samice, ale nevyskytují se ve všech populacích. Rozmnožování je většinou parthenogenetické (Adámková, 1999).

#### 2.7.5. Formy žábřonožky používané v akvakultuře

##### 2.7.5.1. Nově vylíhnutá nauplia

Nejčastěji používaným stádiem žábřonožky pro intenzivní akvakulturu je nauplius I. - II. instaru. Nauplius I. instaru dosahuje velikosti mezi 428  $\mu\text{m}$  - 517  $\mu\text{m}$  (Léger a kol., 1987).

Je vhodné si před zvýšeným použitím ověřit líhivost artémie (procento nauplií vylíhnutých z cyst), efektivitu líhnutí (počet nauplií vylíhnutých z 1 g cyst), interval líhnutí  $T_0$  (čas do prvního vykolení) a  $T_{90}$  (čas do vykolení 90 % nauplií) a výnos z líhnutí (suchá hmotnost nauplií vylíhnutých z 1 gramu cyst). Procento vylíhnutých larev se může pohybovat mezi 20 - 90 % a většinou závisí na kvalitě použitých cyst. Počet nauplií vylíhnutých z 1 gramu cyst se pohybuje mezi 100 000 - 300 000. Samotné líhnutí nauplií se provádí v osvětlených kónických inkubačních nádobách se vzduchováním. Doba do prvního líhnutí se také liší podle druhu (13 - 20 hodin) a  $T_{90}$  se pohybuje v rozmezí 20 - 32 hodin. Tyto údaje jsou důležité pro úspěšné krmení, protože s každou další hodinou navíc spotřebovává nauplius své žloutkové rezervy pro vlastní energetickou spotřebu a stává se hůře polapitelný pro larvy chovaných ryb, které tímto také ztrácí energii potřebnou k plavání. Nauplia žábřonožky jsou vhodné k rozkrmu a krátkodobému krmení ryb, protože při dlouhodobém krmení nesplňují nutriční požadavky ryb (Bengtson a kol., 1991). Proto je vhodné žábřonožky obohacovat mastnými kyselinami, vitamíny, minerály a dalšími nutrieny pro správný vývoj larev.

#### 2.7.5.1.2. Uchování nauplií při nízké teplotě

Pokud jsou nově vylíhnuté artemie uchovávány při nízké teplotě vody (cca 10° C), snižuje se jejich energetický metabolismus a nedochází k metamorfóze do II. instaru. Je nutné použít vzduchování, aby nedošlo ke kumulaci nauplií na dně a jejich dušení. Tímto způsobem je možné uchovat nauplia až 24 hodin a zamezit energetickým ztrátám větším než 5 %. K uchování nauplií při nízkých teplotách se používají nádrže obložené izolačním materiálem, aby byla zachována nízká teplota vody. Vodu je nutné zchladit na požadovanou teplotu chladičem vody, ledem, namraženými deskami s chladícím médiem (Merchie, 1996).

Uchovávání nauplií do dalšího dne při nízké teplotě je výhodné zejména z důvodu snížení pracnosti při přípravě živého krmiva (snížení intervalu denní inkubace a separace artémie, využití menšího počtu nádrží, možnost produkce většího objemu nauplií). Další výhodou je možnost zvýšené frekvence krmení (Merchie, 1996).

#### 2.7.5.2. Metanauplia

Termín metanauplius je označením stádia žábřonožky od II. do V. instaru, nebo od 2. do 5. dne po vylíhnutí. Většina nauplií využije své žloutkové rezervy a vyhladoví k smrti během 3. - 4. dne po vykulení. V případě použití starších vývojových stádií, je nutno zabezpečit jejich výživu. Metanauplia jsou krmena záměrně kultivovanými řasami. Proto je využití metanauplií omezeno zvýšenou pracností při kultivaci řas. Krmení ovšem může být omezeno při využití bioenkapsulačních technik, kdy jsou metanauplia obohacována nutrienty (Bengtson a kol., 1991).

Hlavním omezením při použití metanauplií je jejich velikost (od 500 do 800 µm). Mnoho larev ryb a korýšů nedokáže takto velkou potravu požívat až do doby několika týdnů od začátku příjmu exogenní potravy. Pro predátory, kteří jsou schopni takto velkou potravu přijmout jsou metanauplia ať už krmená řasou nebo obohacená, hodnotným zdrojem potravy. Navíc obsahují větší obsah energie než nově vylíhlá nauplia a častokrát jsou predátory velikostně preferováni před nově vylíhnutými nauplii (Bengtson a kol., 1991).

#### 2.7.5.3. Juvenilové a dospělci artémie

Velikost dospělců artémie se pohybuje mezi 10 – 15 mm (Léger a kol., 1987). Tyto formy artémie mohou být získány intenzivním chovem artémie v kontrolovaných

podmínkách, nebo extenzivním chovem v rybnících se slanou vodou. Jsou využívány převážně jako živé krmivo v chovu krevet. Získávají se vypuštěním chovné nádrže nebo sítí s vhodnou velikostí ok. Dospělci a juvenilové artemie mohou být předkládáni jako krmivo; v živém stavu, zmražené, zchlazené, nebo z nich může být vyrobeno vločkové krmivo (Bengtson a kol., 1991).

Juvenilové a dospělci artemie vyžadují jako zdroj potravy řasu. Kultivace řas pro intenzivní odchov těchto stádií vysoce neekonomická, i když jsou živé řasy artemiemi přijímány lépe než zmražené. Artemie dosáhnou stádia dospělce přibližně za 2 týdny při krmení živou řasou a je nutné v umělém systému pro odchov kontinuálně doplňovat čerstvou slanou vodu (Sorgeloos a Persoone, 1975). Bylo také zjištěno, že artemie které byly chovány při snížené světelné intenzitě rostly rychleji, protože spotřebovaly méně energie při plavání, než artemie které byly chovány při normální světelné intenzitě. Toto zjištění souvisí s kladnou fototaxí artémií (Sorgeloos, 1972).

#### 2.7.5.4. Zmražená artemie

Biomasa artémie může být zmrazena, zchlazena, nebo zpracována do vloček pro pozdější užití s relativně malou ztrátou nutriční hodnoty v závislosti na rychlosti zmražení. Mražení dospělci artémie se používají jako krmivo pro humra amerického (*Hommarus americanus*)(Bengtson a kol., 1991). Nevýhodou je nepohyblivost.

Živá nauplia mohou být v některých případech nahrazena nauplii šokově zamraženými při teplotě  $-196^{\circ}\text{C}$ . Na rychlosti zmražení závisí nutriční hodnota mražených artémií. Šokově zamražené artémie neztrácí rozdíl od pomalu zamražených artémií esenciální nutriční látky a byly například využity k rozkrmu larev síha severního (*Coregonus lavaretus*)(Flüchter, 1980). Mražená artemie může být využita i v rozkrmu larválních a postlarválních stádií krevet. Krevety zpočátku přijímají jako potravu řasy. Pak se přistupuje ke cofeedingu (řasa+živá artémie). Pokud jsou krevety krmeny artémií příliš brzy, dochází ke kompetici přeživších artémií a krevet o řasy, artémie rostou, pohybují se rychleji a krevety je nedokážou kvůli velikosti pozřít a v mnohých případech ani ulovit, protože krevety jsou v larválním stádiu špatnými lovci. Z tohoto důvodu je vhodnější krevetám předkládat artémie mražené nebo usmrcené (Merchie, 1996; Mock a kol. 1980).

#### 2.7.5.5. Dekapsulovaná artémie

##### 2.7.5.5.1. Obaly trvalých vajíček artémie

Obal trvalého vajíčka artémie se skládá z 3 základních vrstev. Alveolární vrstva-Pevná lipoproteinová vrstva hnědé barvy prostoupená chytinem a hematinem je na povrchu. Slouží k ochraně embrya proti mechanickému poškození a UV záření. Vnější kutikulární membrána je permeabilní a zabraňuje pronikání molekul větších než je molekula CO<sub>2</sub>. Embryonální kutikula obaluje embryo, je vysoce elastická a průhledná, během inkubace se vyvíjí v líhnoucí membránu (Morris a Afzelius, 1967).

##### 2.7.5.5.2. Výhody dekapulace

Metoda dekapulace je založená na úplném odstranění vnějšího tvrdého lipoproteinového obalu trvalých vajíček artémie pomocí krátkodobé expozice v chlornanovém roztoku. Dekapulace se vyznačuje oproti klasické separaci nauplií několika výhodami; 1. Vnější tvrdá lipoproteinová vrstva je oxidací chlornanovým roztokem úplně odstraněna, tudíž není potřeba separovat nauplia od prázdných obalů. 2. Nauplia vylíhnutá z dekapulovaných vajíček mají o 30-55 % vyšší obsah energie než mají standartně vylíhnutá nauplia, protože nespotřebují energii na perforaci vnějšího obalu. Pokud mají trvalá vajíčka nízký obsah energie, může tak být výrazně zlepšena jejich líhivost. 3. Trvalá vajíčka artémie mohou být kontaminována bakteriemi, a to zejména bakteriemi *Vibrio sp.* které jsou potencionálními patogeny ryb. Ošetřením chlornanovým roztokem jsou vajíčka dezinfikována a je eliminováno riziko zavlečení patogenních organismů, které se mohou uchytit na vnější vrstvě trvalých vajíček. 4. Trvalá vajíčka mohou být použita i bez inkubace pro přímé krmení larev ryb (Sorgeloos a kol. 1977; Adámková, 1999). Díky své velikosti (200 - 250 µm) jsou dekapulovaná vajíčka výborným zdrojem potravy pro rozkrm malých raných stádií ryb akceptujících nepohyblivou potravu, pro něž jsou nauplia jako potrava velká (400-550 µm) (Adámková, 1999).

##### 2.7.5.5.3. Nevýhody dekapulace

Dekapulovaná vajíčka mají omezené použití při krmení larev ryb a korýšů, protože jsou nepohyblivá, ztratila schopnost vznášet se ve vodním sloupci, a sedimentují na dně odchovných nádrží. Pro larvy schopné přijmat potravu pouze z vodního sloupce se tak stávají nedostupná. V případě použití dekapulovaná vajíčka

jako krmivo pro larvy těchto druhů ryb je nutné buď krátkodobě zvýšit aeraci v odchovné nádrži, nebo dekapsulovaná vajíčka sušit (Adámková, 1999).

#### 2.7.5.5.4. Postup dekapsulace

Samotnou dekapsulaci provádíme v několika krocích: 1. hydratace, 2. dekapsulace, 3. propláchnutí, 4. dezaktivace chlóru (pokud je nezbytně nutná, například pokud chováme zvláště citlivé ryby)(Adámková, 1999).

##### 2.7.5.5.4.1. Hydratace

Hydrataci trvalých vajíček se provádí v kónických inkubačních lahvích (např. sedimentační válec dle Imhoffa) s provzdušňováním odspodu lahve pro mísení vajíček v suspenzi. V inkubační lahvi ve 150 ml vody se hydratuje 3-5 gramů vajíček po dobu 1 hodiny. Gumovou stěrkou je vhodné seškrabovat zpočátku vajíčka ulpělá na stěnách (Adámková, 1999).

##### 2.7.5.5.4.2. Dekapsulace

Po hydrataci jsou k suspenzi v inkubační nádobě přidány 3 ml roztoku NaOH, který se připraví rozpuštěním 40 g NaOH v destilované vodě a doplní do objemu 1 l. Hydroxid sodný zvyšuje pH roztoku na reakční optimum pro dekapsulaci,  $\text{pH} \geq 10$ . Dále přidáme 180 ml chlornanového přípravku SAVO. Je vhodné snížit přívod vzduchu, aby nedocházelo k pění (Adámková, 1999). Během 7-10 minut se rozpustí vnější obal a vajíčka mění svou barvu z hnědé až na oranžovou (Sorgeloos a kol. 1977). Ihned po dosažení oranžové barvy proces dekapsulace ukončíme, aby nedošlo k poškození vajíček a ovlivnění životaschopnosti embryí.

##### 2.7.5.5.4.3. Propláchnutí

Dekapsulovaná vajíčka jsou ihned spláchnuta na sítko a důkladně propláchnuta proudem vodovodní vody, dokud je cítit pach chlóru obvykle 1 - 2 minuty (Adámková, 1999).

##### 2.7.5.5.4.4. Dezaktivace

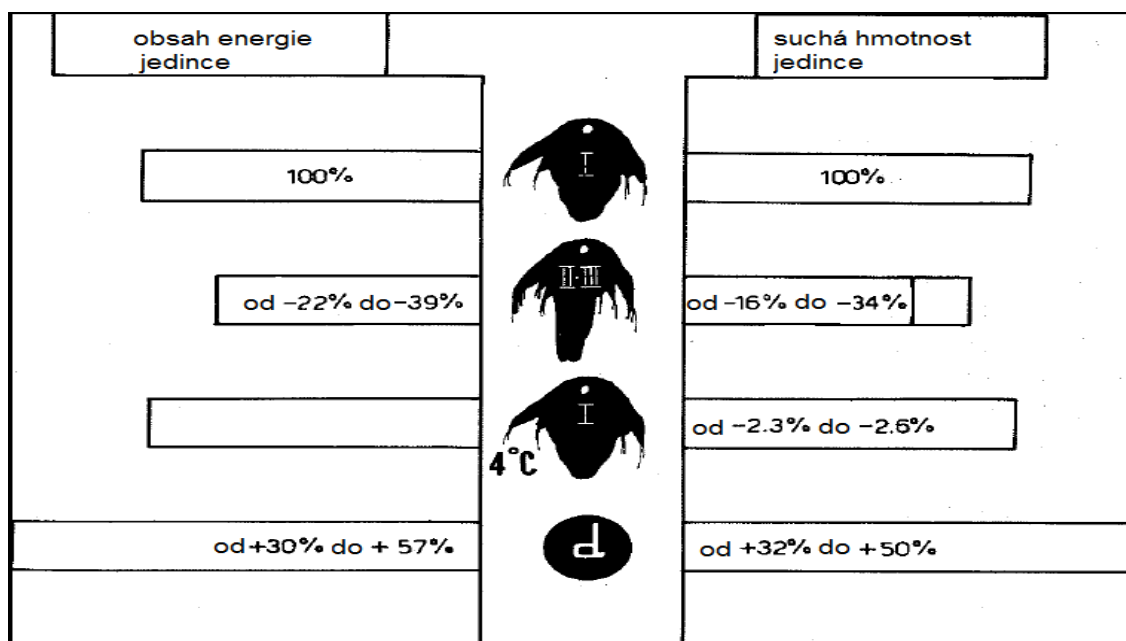
Rezidua chlóru, která mohou zůstat adsorbována na dekapsulovaných vajíčkách lze deaktivovat namočením (přibližně 1 min.) dekapsulovaných vajíček do roztoku 0,1 n HCl, nebo 0,1 %  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Poté se vajíčka znovu propláchnou vodou (Adámková, 1999).



#### 2.7.5.5. Užití dekapsulovaných vajíček a jejich uchování

Dekapsulovaná vajíčka mohou být použita pro přímé krmení larev ryb a korýšů. Lze je rovněž inkubovat standartním postupem nebo krátkodobě uchovat v chladničce při 0-4° C (Adámková, 1999). Pro dlouhodobé uchování dekapsulovaných vajíček je nutné dekapsulovaná vajíčka dehydratovat ve vodou saturovaném roztoku chloritanu sodného. Dekapsulovaná vajíčka v tomto roztoku jsou provzdušňována 3-4 hodiny při pokojové teplotě a poté i s roztokem uchována v menších nádobách při teplotě -4° C nebo nižší. Je vhodné takto uchovaná dekapsulovaná vajíčka spotřebovat do 8 měsíců (Sorgeloos a kol. 1977).

#### 2.7.6. Změny v obsahu energie a suché hmotnosti u různých forem artémie



**Obr. 1** Obrázek znázorňuje změny v obsahu energie a suché hmotnosti u různých forem artémie; (d - dekapsulované artémie, I - nauplia I. instaru (100%) , II-III - metanauplia, I - 4° C nauplia uchovávaná při 4° C). Převzato z Léger a kol. 1987.

#### 2.7.7. Využitelnost artémie v rozkrmu larev

Využitelnost artémie jako živého krmiva závisí na její formě, příjmu artémie larvami a její velikosti. Velikost nauplií není zásadním faktorem v chovu krevet, protože larvy krevet živou kořist roztrhají na části a teprve potom konzumují. Larvy mořských druhů ryb se vyznačují jiným potravním chováním; živou potravu přijímají najednou. Mají velmi malou ústní dutinu, a pokud jsou nauplia většího rozměru,

nedokážou je pozřít. Důsledkem je hladovění larev a následná vysoká mortalita. Například larvy kambaly, pražmy a mořského okouna je nutné zpočátku krmit vířníky, protože nauplia artémie jakéhokoliv druhu či kmene jsou moc velká. Navíc je nutné artémie pro rozkrm larev mořských druhů ryb nutné obohacovat o esenciální nutrienty, které v neobohacené artémii chybí, aby nedocházelo k vysoké mortalitě a vývojovým vadám plůdku (Merchie, 1996).

Sladkovodní ryby lze také rozkrmovat naupliemi žábronožky. Největší nevýhodou při rozkrmu sladkovodních druhů ryb je nízká životnost artémie ve sladké vodě. Artémie ve sladké vodě hyne v intervalu mezi 30 až 60 minutami, proto se doporučuje krmit sladkovodní ryby naupliemi žábronožky každé 2 až 3 hodiny (Merchie, 1996). I přes tuto nevýhodu se artémie může uplatnit jako živé krmivo pro počáteční rozkrm parmy obecné (Policar a kol., 2007), jelce jesena (Hamáčková a kol., 2007), podoustve říční (Hamáčková a kol., 2009), candáta obecného (Lund a Steinfeldt, 2011), lína obecného (Garcia a kol., 2011), síhů (Flüchter, 1980) a dalších druhů ryb.

#### 2.7.8. Nutriční složení nauplií artémie

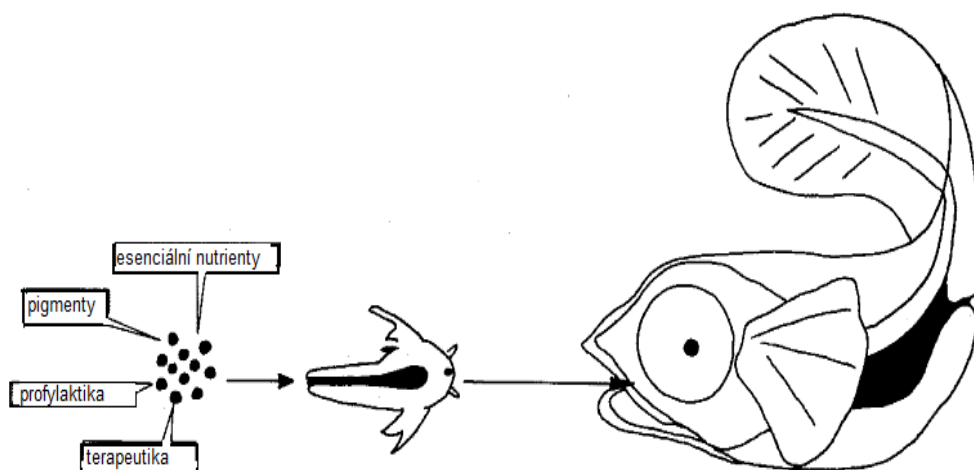
Nutriční složení čerstvě vylíhlých nauplií artémie se liší v závislosti na druhu, inkubační době, kvalitě cyst a podmínkách prostředí.

Mc Evoy a kol. (1997) zkoumali složení mastných kyselin u neobohacených nauplií 6 hodin po vylíhnutí. Nauplia obsahovala 56,3 % PUFA. 48,6 % tvořily n-3 mastné kyseliny a 6,9 % n-6 mastné kyseliny. Poměr mezi n-3/n-6 byl 7,1 a poměr mezi DHA/EPA byl 0,1. Evjemo a kol., (2001) se zabývali nutričním složením čerstvě vylíhlých nauplií. Celkový obsah lipidů byl  $145 \pm 4,6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  sušiny. Z celkového obsahu lipidů tvořily mastné kyseliny 68 % ( $99 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  sušiny). 34 % tvořily n-3 mastné kyseliny kromě EPA a DHA. DHA nebyla zaznamenána a obsah EPA byl  $3,9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  sušiny. Obsah proteinu byl  $380 \pm 11,2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (38 %) sušiny. Han a kol., (2000) udávají u nově vylíhlých nauplií obsah EPA  $8,8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , DHA  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  a celkový obsah n-3 mastných kyselin  $10,4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  sušiny. Léger a kol. (1986) udávají, že kompozice nutrientů v naupliích artémie se může velmi lišit; obsah proteinu se může pohybovat v rozmezí 37-71 %, obsah lipidů mezi 12-30 %, obsah karbohydrátů od 11 do 23 % a popelovin od 4 do 21%.

### 2.7.9. Bioenkapsulace metanauplií artémie

Čerstvě vylíhlá nauplia artémie obsahují velmi malé množství n-3 nenasycených mastných kyselin a zvláště kyseliny dokosahexaenové (DHA). Především kvůli nedostatku n-3 nenasycených mastných kyselin byly vyvinuty techniky obohacování neboli bioenkapsulace živých krmných organismů o tyto a další nutrienty. Úspěšnost při modifikaci obsahu mastných kyselin v metanaupliích je závislá na zvoleném bioenkapsulačním médiu, na podmínkách bioenkapsulace a na zvoleném druhu artémie (Han a kol., 2000). Bioenkapsulační techniky byly vyvinuty především pro mořské druhy ryb, které nedokáží syntetizovat vysoce nenasycené mastné kyseliny z nižších nenasycených mastných kyselin. Protože artémie je při přijímání potravy neselektivní filtrátor, bylo využito různých typů bioenkapsulačních médií k inkorporaci různých látek do těla artémie (Merchie, 1996; Sorgeloos a kol., 2001). Sorgeloos a kol. (2001) zjistili, že artémie začíná přijímat potravu až po 8 hodinách, ve stádiu II. instaru.

Bioenkapsulaci v akvakultuře můžeme definovat jako proces, při kterém se do živého krmného organismu inkorporuje požadovaná látka nebo látky, které mají význam nejčastěji ve výživě cílového organismu a dochází ke změně nutriční kompozice krmného organismu. K tomu dochází několika způsoby: orálním přijetím částic, fagocytózou, pinocytózou nebo endocytózou (Gelabert, 2001).



**Obr. 2** Obrázek schematicky znázorňuje využití metanauplií artémie v procesu bioenkapsulace k transportu terapeutik, pigmentů, esenciálních nutrientů a profylaktik do těla ryb. Převzato z Léger a kol. 1987.

### 2.7.9.1. Bioenkapsulační média

V akvakultuře se využívá několika bioenkapsulačních médií; jednobuněčných mikrořas (Vismara a kol., 2003), probiotických kvasinek (Patra a Mohamed, 2003), liposomů (Monroig a kol. 2006; Monroig a kol. (2007) emulzí olejů s vysokým obsahem HUFA (Léger a kol., 1987, Immanuel a kol., 2007), ztuhlých lipidových kapének s obsahem nízkomolekulárních a ve vodě rozpustných látek (LSB- lipid spray beads)(Langdon a kol., 2008) a probiotických bakterií (Gomez-Gil a kol., 1998). Nejčastěji se využívá přírodních i komerčních emulzí, protože je dosahováno vysokých hodnot obohacení krmného organismu a příprava emulze není náročná. Mc Evoy a kol. (1995) zjistili, že při použití přírodních a po určitém čase (23 hodin) i u komerčních emulzí může docházet k autooxidaci lipidů. Proto je vhodné přidat do emulze silný antioxidant nebo zkrátit dobu bioenkapsulace. Sorgeloos a kol. (2001) udává, že k potlačení autooxidace lipidů se využívá ve vyšších koncentracích vitamín E.

#### 2.7.9.1.1. Jednobuněčné řasy

Mikrořasy jsou významným zdrojem proteinů, karbohydrátů, lipidů, a vitamínů (Rocha a kol., 2003). Rody řas *Nannochloropsis sp.* a *Chlorella sp.* jsou významným zdrojem lipidů i proteinů a v řase *Spirulina maxima* byl zaznamenán vysoký obsah proteinů (Lakshmanasenthil a kol., 2013). Lakshmanasenthil a kol. (2013) uvádějí, že je významný rozdíl v nutričním složení mořských a sladkovodních řas; mořské řasy obsahují vysoký podíl nenasycených mastných kyselin, jako jsou EPA a DHA, zatímco sladkovodní řasy jsou převážně bohaté na nasycené a mononasycené kyseliny. Před bioenkapsulací artemie mikrořasou je nutné znát její nutriční složení. Lakshmanasenthil a kol. (2013) prokázali, že při srovnání obohacení artémie za použití komerčního přípravku A1 DHA SELCO (Artemia International, LLC, USA) a obohacení artémie za použití mikrořas bylo dosaženo srovnatelných výsledků.

#### 2.7.9.1.2. Probiotické kvasinky

Patra a Mohamed, (2003) využili probiotických kvasinek rodu *Saccharomyces bouldarii* k obohacení artémie. Probiotický účinek *Saccharomyces bouldarii* se projevuje v rezistenci organismu před gram-negativními bakteriemi rodu *Vibrio*. Kvasinky bylo nutné před experimentem kultivovat na Sabouraudově agaru po dobu 48-72 hodin. Bylo zjištěno, že artémie obohacené kvasinkami vystavené působení bakterie *Vibrio harveyi* po dobu 48 hodin měly vyšší přežití (91 %) ve srovnání s kontrolou (40

%). Při využití takto obohacené artémie jako živého krmiva pro larvy ryb se předpokládá odolnost larev ryb vůči bakteriím rodu *Vibrio* sp.

#### 2.7.9.1.3. Probiotické bakterie

V trávicím traktu chovaných larev ryb nemusí dojít k vytvoření stálého mikrobiálního společenstva důležitého při prevenci nemocí ryb. Tento problém je patrný hlavně u juvenilů odchovaných v kontrolovaných podmínkách prostředí, kde je prostředí relativně sterilní. Při převozu takto odchovaných ryb do rybníků pro další odchov dochází ke zvýšené náchylnosti k nemocem, a především k nákazám bakteriálního původu (Gomez-Gil a kol., 1998). Využití bakterií jako probiontů a krmení takto obohacenou živou potravou bylo testováno u krevet, krabů, ústřic a ryb. Byly využity bakteriální rody *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus* a několik rodů mléčných bakterií. Výsledky byly často velmi rozporuplné (Gomez-Gil a kol., 1998).

Velmi důležité je vybrat správný kmen bakterie, který bude konzumován artémiemi. K zjištění který druh a kmen probiotické bakterie je vhodný pro bioenkapsulaci slouží tyto kroky: 1. sběr podkladů o bakteriích, 2. získání testovací bakterie, 3. vyhodnocení schopnosti kompetice zvolené bakterie s patogenními kmeny, 4. posouzení patogenity bakterie, 5. posouzení účinku na larvy ryb, 6. analýza ekonomických nákladů (Gomez-Gil a kol., 1998).

#### 2.7.9.1.4. Liposomy

Liposomy jsou uměle připravené uzavřené vesikuly tvořené nejčastěji lipidovou dvojvrstvou a vnitřním izolovaným kompartmentem obsahujícím většinou ve vodě rozpustné látky. Jejich velikost se pohybuje od desítek nanometrů až do několika mikrometrů. Obsah liposomu můžou tvořit ve vodě rozpustné látky, stejně tak jako hydrofobní molekuly. Obaly liposomů tvoří polární lipidy, které umožňují uchování různých látek (například ve vodě rozpustných vitamínů, antibiotik, nenasycených mastných kyselin) uvnitř liposomu a transport do těla artémie a následně i do chovaného organismu. Hlavním problémem, který může omezit využitelnost liposomů je ztráta stability liposomové dvojvrstvy a vyluhování obsahu liposomu do vody už během procesu obohacení vlivem silného vzduchování a teploty vody (Monroig a kol., 2003). Lepších výsledků ve srovnání s multilamelárními liposomy bylo dosaženo při použití větších unilamelárních vesikul (LUV), připravených rozpuštěním jedné lipidové vrstvy detergentem v ethanolu, které byly stabilizovány cholesterolem. Tímto způsobem bylo

možné zachovat 60-70 % nepropustnost membrány po dobu 20 hodin (Monroig a kol., 2003). Monroig a kol. (2006) zjistili, že úspěšnost obohacení artémií není přímo závislá na koncentraci liposomů v bioenkapsulačním médiu, pravděpodobně proto, že po naplnění trávicího traktu artémií je další bioenkapsulace zastavena. Nejlepších výsledků dosáhli při použití dávky  $0,25 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Dále zjistili, že při vysoké hustotě artémie v bioenkapsulačním médiu ( $700 \text{ nauplií} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) může být snížena filtrační schopnost artémie, může docházet k hypoxii a následně k vysoké mortalitě. Doporučují mírnou aeraci ( $1 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ ) a hustotu  $300 \text{ nauplií} \cdot \text{ml}^{-1}$ . Za těchto podmínek je účinnost obohacení artémie liposomy srovnatelná s emulzemi. Monroig a kol. (2007) zjistili, že liposomy jsou odolnější proti autooxidaci tuků ve srovnání s komerční emulzí na bázi rybího oleje. Rychlost autooxidace v liposomech je závislá na délce řetězce nenasycené mastné kyseliny uvnitř liposomu. Čím delší řetězec, tím rychlejší je proces autooxidace. Langdon a kol. (2008) upozorňuje, že produkce liposomů závisí na drahé purifikaci fosfolipidů a zahrnuje mnoho kroků při výrobním procesu. To se projevuje v ceně bioenkapsulačního média a tímto způsobem není možné provádět obohacování ve větší míře.

#### 2.7.9.1.5. Ztuhlé lipidové kapénky- lipid spray beads (LSB)

Mikronutrienty rozpustné v tucích mohou být součástí emulzí nebo mikrodiet aniž by docházelo k výraznému vyluhování do vody a jejich ztrátě. To neplatí o mikronutrientech rozpustných ve vodě. Ty jsou ze startérových krmných směsí a emulzí vyluhovány a účinnost obohacení o tyto látky je velmi nízká. Pokud jsou tyto nutrienty obsaženy uvnitř částic s nepropustnou membránou, účinnost obohacení bývá vyšší. Tímto způsobem je možné obohacovat živou potravu o esenciální minerály, aminokyseliny, vitamíny a léčiva (Langdon a kol., 2008).

Jednou z metod transportu nízkomolekulárních ve vodě rozpustných látek do těla artémie jsou ztuhlé lipidové kapénky (LSB). Postup při výrobě ztuhlých lipidových kapének je následující; lipidová kapénka je rozpuštěna, dále je přidán požadovaný mikronutrient. Tato směs je nastříkována do komory s tekutým dusíkem, kde dochází ke ztuhnutí směsi. Při produkci lipidových kapének je velmi důležité zvolit materiál s nízkým bodem tání (Nordgreen a kol., 2007).

K výrobě ztuhlých lipidových kapének můžou být využity různé materiály jako například parafin a fosfolipidy (Nordgreen a kol., 2007) včelí vosk, (Langdon a kol.,

2008), triacylglyceroly (Buchal a Langdon, 1998), methyl palmitát (Önal a Langdon, 2004). Langdon a kol. (2008) zjistili, že ve srovnání s fosfolipidy a triacylglyceroly se jeví jako vhodnější obalový materiál LSB včelí vosk, protože je relativně inertní a je menší pravděpodobnost biochemické reakce s vnitřním materiálem.

Langdon a kol. (2008) došli k závěru, že kapénky ze včelího vosku spolehlivě přenesly oxytetracyklin a riboflavin do organismu artémie. Výsledky naznačují, že při prevenci nemocí plůdku lze použít menší množství oxytetracyklinu než při klasických koupelích. Artémie byla schopná rozložit obal ze včelího vosku a vstřebat obsah. Velkou nevýhodou využitelnosti LSB byly podstatné ztráty mikronutrientů při přípravě; zvláště vitamínů A (69 %), E (65 %) a C (94 %). Retence mikronutrientů při použití kapének ze 100 % včelího vosku byly následující: taurin, arginin a methionin (každý v rozmezí 48-55 %), jód (52 %), zinek (100 %), riboflavin (83 %) a thiamin (59 %).

#### 2.7.9.1.6. Emulze olejů s vysokým obsahem HUFA

Rybí olej obsahuje nejdůležitější esenciální mastné kyseliny nezbytné a důležité pro vývoj larválních stádií. Variabilita v obsahu vysoce nenasycených mastných kyselin a jejich nízký obsah v tradičních živých krmných organismech vedla k vývoji nových komerčních přípravků s vysokým obsahem HUFA (Immanuel a kol., 2007). Komerční preparáty na bázi emulze pro obohacení artémií jsou častokrát velmi drahé, proto byly testovány také levnější emulze na bázi přírodního rybího oleje; orbitální olej z tuňáka (Mc Evoy a kol., 1995; Mc Evoy a kol., 1997; Bell a kol., 2003; Tocher a kol., 1997), oleje připravené silážováním (Tocher a kol., 1997), olej z jater tresky (Mc Evoy a kol., 1995; Hosseini a Imanpoor, 2011), olej z jater ostence černého (*Odonus niger*) (Immanuel a kol., 2007). Tocher a kol. (1997) zjistili, že při použití oleje z neurálních tkání tresky připraveného silážováním, bylo dosaženo lepších výsledků při obohacení artémie o kyselinu DHA, než u komerčního preparátu. Navarro a kol., (1999) zjistili, že obohacení artémie o kyselinu DHA, kterou obsahují ve větší míře rybí oleje z mořských ryb, může být málo efektivní z důvodu konverze DHA na kyselinu EPA v těle artémie. Mc Evoy a kol. (1995) prokázali, že autooxidační proces u emulzí rybích olejů probíhal rychleji, než u komerčního preparátu který obsahoval antioxidanty. Mc Evoy a kol. (1997) využili sójový fosfadidylcholin aby zabránili autooxidačnímu procesu a v emulzi orbitálního oleje z tuňáka a doporučují obsah 12 % sójového fosfatidylcholinu po dobu bioenkapsulace 18 hodin.

### 2.7.9.2. Postup bioenkapsulace artémií

Bylo vyvinuto mnoho postupů bioenkapsulace artémií. Tyto postupy se liší především dobou obohacování artémií, různými dávkami a formou obohacení podle zvoleného bioenkapsulačního média.

Nejvyšší účinnost při procesu bioenkapsulace udává Sorgeloos a kol. (2001) při použití emulzifikačních přípravků. K tomuto účelu se používá například samoemulgační přípravek SELCO. SELCO obsahuje směs mořských olejů, vitamínů a karotenoidů. Po naředění vodou se vytvoří rozptýlené mikroglobuly (Léger a kol., 1986).

Čerstvě vylíhlá nauplia v hustotě 100-300 nauplií · ml<sup>-1</sup> jsou obohacována po dobu < 24 hodin nebo > 24 hodin. Bioenkapsulační emulze by měla obsahovat desinfikovanou mořskou nebo slanou vodu. Proces by měl probíhat za konstantní teploty 25° C. Dávka účinné látky v emulzi je stanovena na 0,3 g · l<sup>-1</sup> a po 12 hodinách se emulze musí vyměnit za novou. Je vyžadována silná aerace, která udrží obsah rozpuštěného kyslíku nad úrovní 4 mg · l<sup>-1</sup>. Obohacená metanauplia jsou po procesu obohacení důkladně promyta a uchovávána při teplotě do 10° C. Po 24 hodinách bioenkapsulace je dosahováno v obohacených metanaupliích 50-60 mg · g<sup>-1</sup> n-3 HUFA (Merchie, 1996; Sorgeloos a kol., 2001). Po 24 hodinách dosahují metanauplia velikosti 660 μm a po 48 hodinách 790 μm (Merchie, 1996). Doba obohacení nauplií je závislá na věku ryb. Pokud jsou krmena larvální stádía, obvykle se volí kratší doba obohacení (12 hodin) z důvodu menší velikosti obohacených metanauplií. U juvenilních stádií ryb může doba obohacení být delší (24 hodin)(Merchie, 1996).

### 2.7.9.3. Srovnání účinnosti komerčních přípravků pro obohacení artémie

Boglino a kol. (2012) zkoumali vliv 5 různých komerčních přípravků; Easy Selco®, Multigain®, RedPepper®, Aquagrow Gold® a Aquagrow DHA®. Nejlepších výsledků u larev platýze *Solea senegalensis* bylo dosaženo při použití artémie obohacené Aquagrow Gold. Ostatní přípravky byly méně účinné a larvy krmené takto obohacenými artémiemi rostly pomaleji. Larvy krmené artémiemi obohacenými v emulzi Easy Selco vykazovaly nejnižší růst, zhoršenou osifikaci kostí a vývoj střevních enterocytů.



### 3. MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1. Recirkulační systém

Plůdek byl dovezen do akvariijní místnosti FROV, kde byl nasazen do připraveného recirkulačního systému. Recirkulační systém se skládal z 12 experimentálních nádrží, nádrže na odtokovou vodu, čerpadla a nádrže, ze které přitékala voda do systému. Nádrž na odtokovou vodu byla opatřena filtračním materiálem ve formě 8 polyuretanových plátů. Nádrž, do které byla čerpadlem čerpána přefiltrovaná voda, byla umístěna do výšky 2,5 metru, aby byl umožněn přítok vody do systému samospádem. Přítok vody do experimentálních nádrží byl nastaven na  $0,5 \pm 0,2$  litru za minutu. Přítok vody bylo možné regulovat jednak hlavním ventilem pod přítokovou nádrží a u každé experimentální nádrže byl další ventil, kterým se nastavoval požadovaný přítok. Vzduchování bylo zajištěno pomocí systému pvc trubek. U každé nádrže byl nainstalován k regulaci intenzity vzduchování ventil, od kterého vedla do každé nádrže hadička zakončená vzduchovacím kamínkem.

##### 3.1.2. Experimentální nádrže

Každá z experimentálních nádrží byla navržena tak, aby splňovala stejné podmínky pro každou experimentální skupinu. Nádrže byly umístěny do ocelového regálu po 6 ve dvou patrech nad sebou. Aby byla zajištěna stejná světelná intenzita pro každou nádrž, byla v dolní zastíněné řadě nainstalována zářivka. V každé nádrží byl objem vody 40 litrů. Voda odtékala z horní části nádrže. Odtok byl zajištěn velmi jemnou uhelovou sítkou, aby nedošlo k úniku ryb.

#### 3.2. První fáze odchovu candáta (5.4. 2013- 26. 4. 2013)

Do akvariijní místnosti Laboratoře řízené reprodukce a intenzivního chovu ryb Ústavu akvakultury FROV JU byli přivezeni candáti ve stáří 3 dnů, původem z poloumělého výtěru ve Vodňanech, provedeného doc. Policarem. Průměrná hmotnost larvy candáta se pohybovala od 0,35 - 0,42 mg. Candáti byli napočítáni a nasazeni do recirkulačního systému v množství 2000 kusů na nádrž (50 kusů na litr). Odchov spočíval v kontinuálním krmení inkubovanou artémií ve stejném množství do každé nádrže. Na začátku krmení byly otestovány různé druhy artémie- americká (*Artemia franciscana*) a 2 ruské (pocházející z Altaje a Tumeňe). Pro další průběh experimentu byla vybrána *Artemia franciscana* kvůli nejvyšší líhivost a kvalitě nauplií. Byly

stanoveny poměry sody, soli a artémií pro úspěšnou inkubaci ( $\geq 90$  % vylíhlých nauplií). Taktéž byly stanoveny krmné dávky. Do 9.4. bylo krmeno do každé nádrže 100 ml artémií, následně byla dávka snížena na 50 ml. Larvy byly krmeny každé 3 hodiny od 8:00 ráno až do 01:00. Každý den byly ráno a večer sledovány parametry vody; teplota, pH, obsah rozpuštěného kyslíku pomocí oxymetru HACH Lange HQ 40d (Colorado, USA). V průběhu první fáze odchovu larev byli odlovováni kanibalové.

### 3.2.1. Postup inkubace artémie

Zpočátku je nutné připravit si určitý objem vody, která bude využita na inkubaci. Vzhledem k teplotě vody při inkubaci artémií je nutné vodu vytemperovat na 27-27,5°C. Doporučuje se, aby voda použitá při inkubaci artémie byla alespoň den odstátá z důvodu možných reziduí chloru a jiných látek, což by mohlo negativně ovlivnit proces inkubace. Následně byla navážena sůl a soda, které byly rozpuštěny v připravené vodě. K vážení byla použita elektronická laboratorní váha KERN-440-35A. V našich pokusech se nejlépe osvědčila koncentrace soli 20 gramů na litr a 2 gramy na litr sody. Voda byla nalita do inkubačních lahví a do každé lahve bylo přidáno 10 gramů cyst. K inkubaci jsme použili 13 PET lahví o objemu 1,5 litru, ze kterých bylo seříznuto dno. Lahve byly zavěšeny pomocí háčků na stěnu inkubačního akvária. Na dno každé inkubační nádoby (do víčka) je zavedena hadička s vzduchovacím kamínkem. Intenzita vzduchování byla střední, aby nedocházelo vlivem silného proudění v lahvi k přetékání artémií do inkubačního akvária. Proto je vhodné umístit na každou hadičku regulační svorku. Každý den bylo nasazováno průměrně 4-8 lahví s ohledem na potřebu artémie. Doba inkubace ruské a americké artémie se liší; *Artemia franciscana* byla inkubována 24 hodin, ruská artémie z Altaje a Tumeně až 32 hodin. Inkubace probíhla v akváriu napuštěném dostatečným množstvím vody (v našem případě 67 litrů) o teplotě 27-27,5°C. Teplotu byla udržována konstantní akvarijním topítkem s termostatem po celou dobu inkubace. K trvalému osvětlení byla využita stolní lampa s žárovkou o příkonu 100 W pro simulaci přírodních podmínek líhnutí artémií. Každý den byl zaznamenán čas nasazení.

### 3.2.2. Separace artémií

Nejprve byla připravena přibližně do poloviny laboru voda o stejné koncentraci soli, jako byla voda při inkubaci ( $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ), nicméně teplota vody byla nižší (průměrně

8-10 °C). Následně byl obsah inkubačních lahví přelit do lavoru o objemu 35 litrů. Lavor byl nakloněn pod bodový zdroj světla (lampa s 40 W halogenovou zářivkou) a zafixován, aby nedošlo k převrhnutí. Poté, co se ustálila hladina vody, byla odebírána povrchová vrstva schránek artémií plavajících na hladině speciálním sítkem s uhelonem. Po odebrání povrchové vrstvy byly nasáty pomocí hadičky přibližně v polovině až třetině ode dna lavoru nauplia artémií, která se hromadila pod bodovým zdrojem světla. Samospádem byla nauplia přepouštěna do předem připraveného vědra nebo věder. Zpravidla do první nádoby se přepouštěla čistější a na separaci méně náročnější frakce nauplií, do druhé nádoby zbytková artemie. Postup promývání novou ředící vodou se opakoval do té doby, dokud nebyla získána čistá nauplia artémií, která jsou charakteristická sytě oranžovou barvou bez nečistot.

### 3.2.3. Přechovávání nauplií

Z důvodu dlouhodobého přechování a zamezení konzumace žloutkových rezerv byla naupliím artémie snížena teplota vody. Nauplia byla umístěna buď do lavorů se vzduchováním a teplota vody byla udržována pomocí namražených chladících desek, které byly vyměňovány kontinuálně za nové, nebo byla nauplia se vzduchováním umístěna do nádob a nádoby do akvárií s chladnou vodou. Voda v těchto akváriích byla kontinuálně během 3-5 hodin vyměňována v závislosti na fázi odchovu (během počátku dubna bylo kolísání teplot pomalejší). Snahou bylo přechovávat nauplia artémií při teplotě vody 8-13° C.

### 3.3. Pokus s obohacenými metanauplii artémie (27.4. - 5.5. 2013)

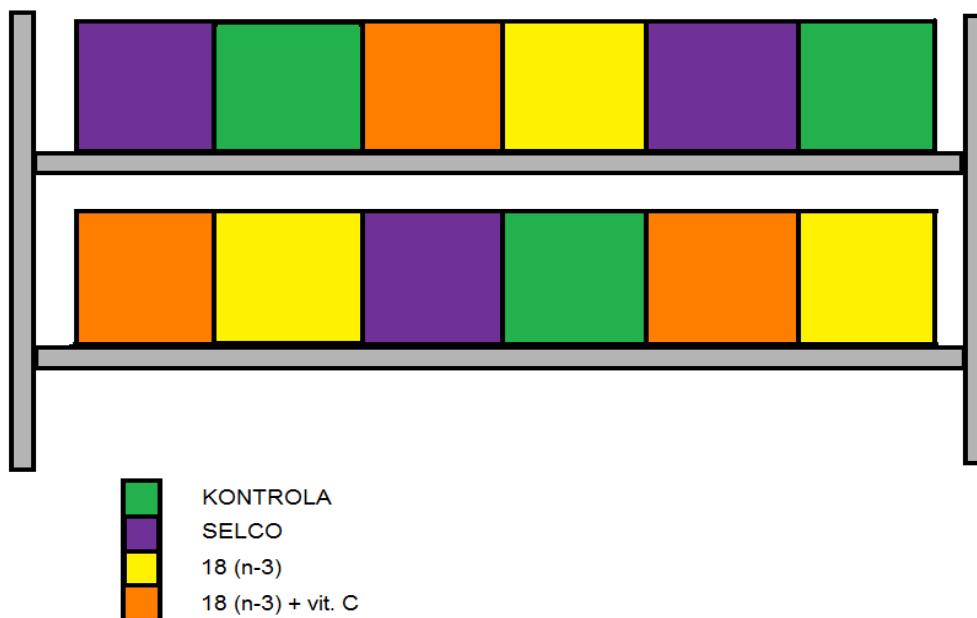
Dne 26.4. byl plůdek přeloven pomocí misek s vodou, přepočítán a znovunasazen v počtu 300 kusů na nádrž (celkem 3600 kusů; tj. 75 kusů na litr). Podmínky pokusu byly stejné jako u první fáze odchovu s výjimkou odlovování kanibalů. Kanibalové nebyli odlovováni a byla zvýšena krmná dávka na 200 ml artémie na nádrž. Každý den byly nádrže čištěny, odlovováni uhynulí jedinci a zaznamenávána mortalita. Nádrže byly rozděleny do 4 skupin: první 3 skupiny podle typu obohacení a 4. skupina byla kontrolní (každá skupina zahrnovala 3 nádrže):

a) obohacení přípravkem SELCO

b) obohacení olejem s obsahem kyseliny  $\alpha$ -linolenové (18:3 n-3; ALA)

c) obohacení (18:3 n-3; ALA) + přípravek s vitamínem C

d) kontrolní skupina



**Obr. 3** Nákres zachycuje uspořádání nádrží do skupin v pokusu s obohacenými metanauplii artémie.

### 3.3.1. Co-feeding

Od 1.5. se přistoupilo ke co-feedingu: 1.5. jsme aplikovali 1. dávku o hmotnosti 50 gramů suchého startérového krmiva Biomar Inicio plus. Každý následující den byla přidána další dávka o stejné hmotnosti. Zbytky krmiva byly z nádrží odstraňovány.



**Obr. 4** Rozvržení krmení tzv. co-feedingem v jednotlivých dnech

### 3.3.2. Ukončení pokusu

Dne 5.5. byl pokus ukončen, ryby vyloveny, šetrně usmrceny v roztoku anestetika hřebíčkový olej  $0,3 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$  a spočítány. Z každé nádrže byl zvážen a změřen náhodně vybraný vzorek 25 kusů ryb na analytických vahách a byl stanoven obsah jejich trávicího traktu ve smyslu určení typu potravy a zhodnocení úspěšnosti co-feedingu. Ryby byly individuálně zváženy na Petriho misce po osušení filtračním papírem. K měření délky ryb byla použita binolupa.

### 3.3.3 Postup při obohacování nauplií artémie

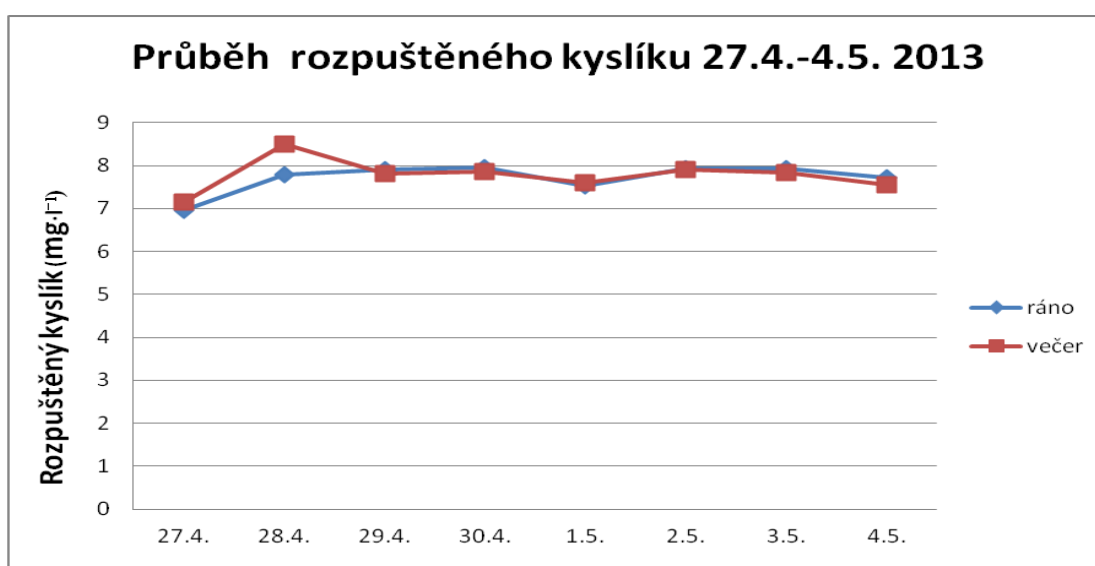
Obohacování artémií bylo provedeno ihned po separaci. Nejprve byla připravena slaná voda o pokojové teplotě se stejným obsahem soli jako při separaci artémií. Voda byla nalita ve stejném objemu do všech obohacovacích nádob a do každé nádoby je zavedeno vzduchování. Dále si připravíme obohacovací emulze (suspenze):

1. SELCO – Dávka 0,5 g přípravku (tuhá mazlavá látka, uchovávaná v originální plastovém obalu v mrazničce při teplotě  $-15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) byla zhomogenizována v 0,5 l vody v litrové plastové odměrce pomocí tyčového mixeru (až do dosažení bělavé emulze) a poté byl objem doplněn na 1 litr.
2. 18:3 n-3; ALA- Dávka 0,5 ml přípravku (olejovitá kapalina uchovávaná v chladničce při teplotě  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) obsahující kyselinu  $\alpha$ -linolenovou byla identickým způsobem rozmíchána v 0,5 litru vody a objem doplněn do 1 litru.
3. 18:3 n-3; ALA + vitamín C- Postup přípravy byl stejný jako u emulze 2, lišil se pouze přidáním 50 kapek přípravku s vitamínem C před rozmixováním.

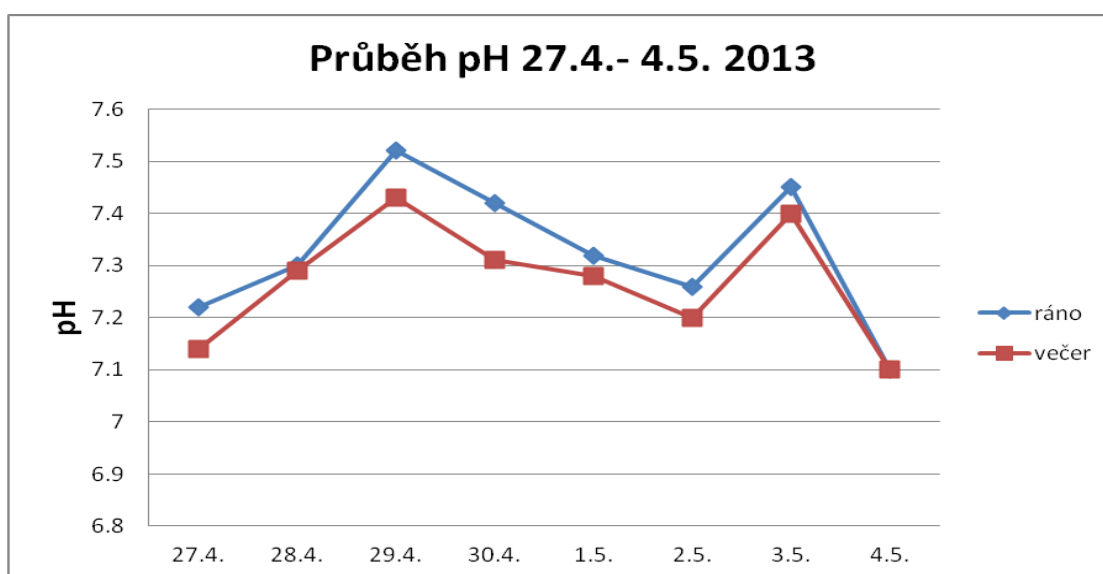
Každá emulze byla rozlita do obohacovacích nádob. Dále byly do každé nádoby přidána nauplia artémie v poměru: 0,5 litru artémií na 2,5 litru emulzního roztoku. Obohacování artémií může probíhat různou dobu v závislosti jejich přežití. Před zahájením krmného pokusu s plůdkem byl stanoven časový interval, po kterém došlo k úhynu  $\geq 50 \%$  artémií v jednotlivých variantách. Podle tohoto zjištění, ale také podle velikosti obohacených metanauplií sledované v různých časových intervalech (12, 24 a 32 hodin) byla zvolena efektivní doba obohacování artémií. V našem experimentu byly artémie ve všech variantách v průběhu celého pokusu obohacovány po dobu 24 hodin.

Po skončení obohacování bylo nutné obohacené artémie promýt od obohacovací emulze, aby olej nekontaminoval vodu v chovných nádržích. Pro promývání artémií byla připravena chladná voda o stejné koncentraci soli jako při inkubaci. Metanauplia byla promývána pomocí speciálního uhelonoového síta, které zachytilo metanauplia a ta byla dále promývána připravenou vodou až do fáze, kdy už nebyl patrný povrchový film na hladině z obohacovací emulze. Promytá metanauplia artémií byla přechovávána stejným způsobem a stejně dlouhou dobu jako nebohacená nauplia po separaci.

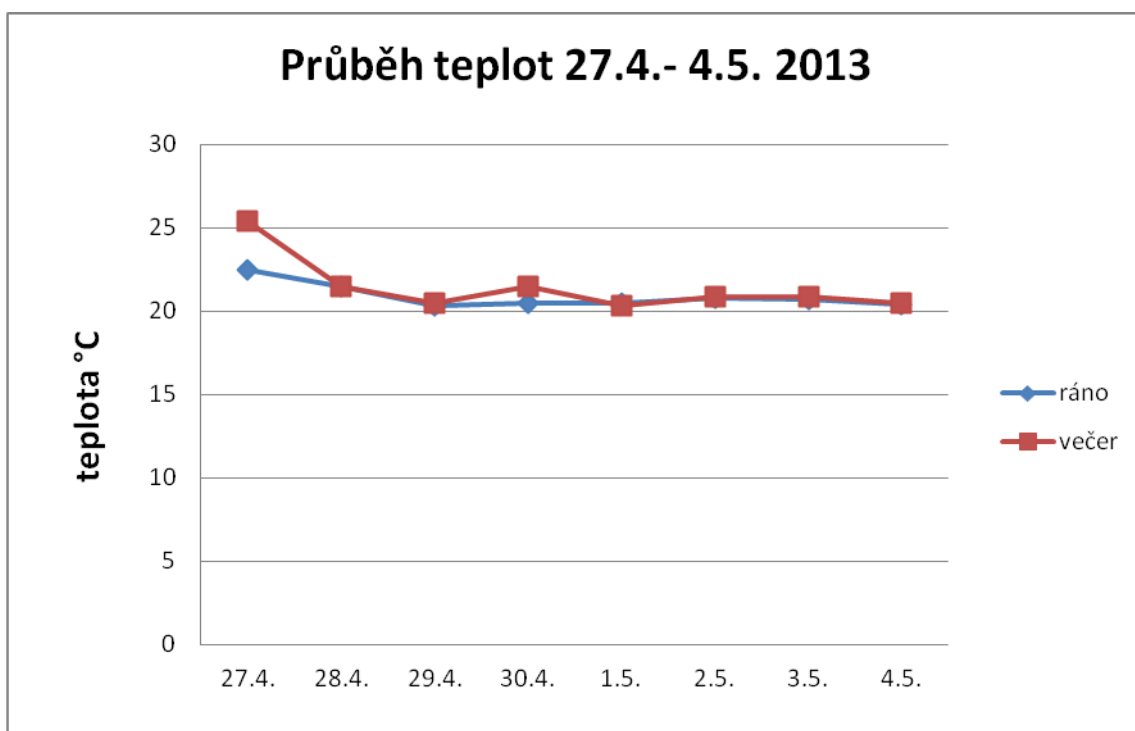
### 3.3.4 Podmínky krmného pokusu s obohacenou artémií



**Graf 1** Naměřené hodnoty rozpuštěného kyslíku ráno a večer v pokusných akváriích.



**Graf 2** Naměřené hodnoty pH ráno a večer v průběhu v pokusných akváriích.



**Graf 3** Naměřené hodnoty teplot ráno a večer v pokusných akváriích.



**Obr. 5** Přípravek k obohacování artémií SELCO (Výrobce: Artemia Systems, Belgie)

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Inkubace artémie

Nejvyšší líhivost artémie byla zjištěna u *Artemia franciscana* > 90 % narozdíl od ruských artémií, kde se líhivost pohybovala  $\leq 50$  %. Nejvyšší líhivosti bylo dosaženo při koncentraci soli  $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ , dávce sody  $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  a dávce cyst o hmotnosti 10 g. Při použití koncentrace soli  $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  nebyla zaznamenána vyšší líhivost než při koncentraci  $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

### 4.2. Výsledky počátečního 24 denního odchovu plůdku candáta obecného

Byla stanovena průměrná počáteční hmotnost jedince první den odchovu (0,39 mg). Po 24 denním odchovu byl z 50 vzorků ryb vypočítán průměrný denní přírůstek plůdku 1,5 mg za den. Průměrná hmotnost jedince po 24 denním odchovu byla 36,39 mg a průměrná délka odchovaných ryb 15,8 mm. Z celkového počtu 24 000 kusů larev candáta obecného bylo po skončení první fáze odchovu dosaženo přežití plůdku 16,25 % (3900 kusů).

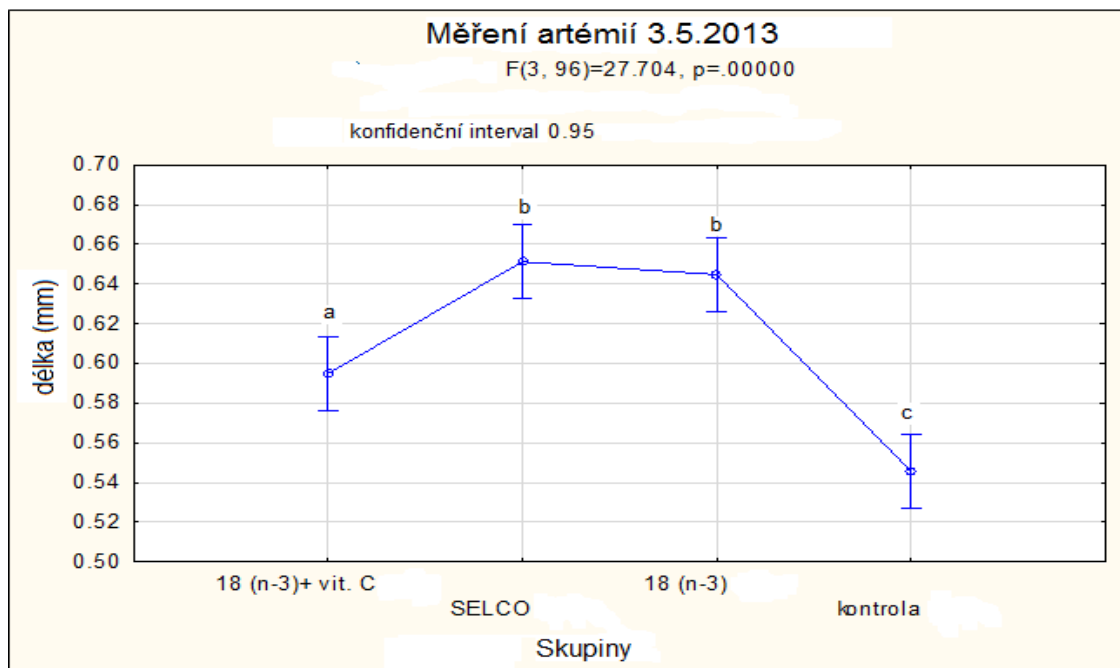
### 4.3. Pokusy s obohacenou artémií

#### 4.3.1. Porovnání velikosti obohacených a neobohacených nauplií artémie

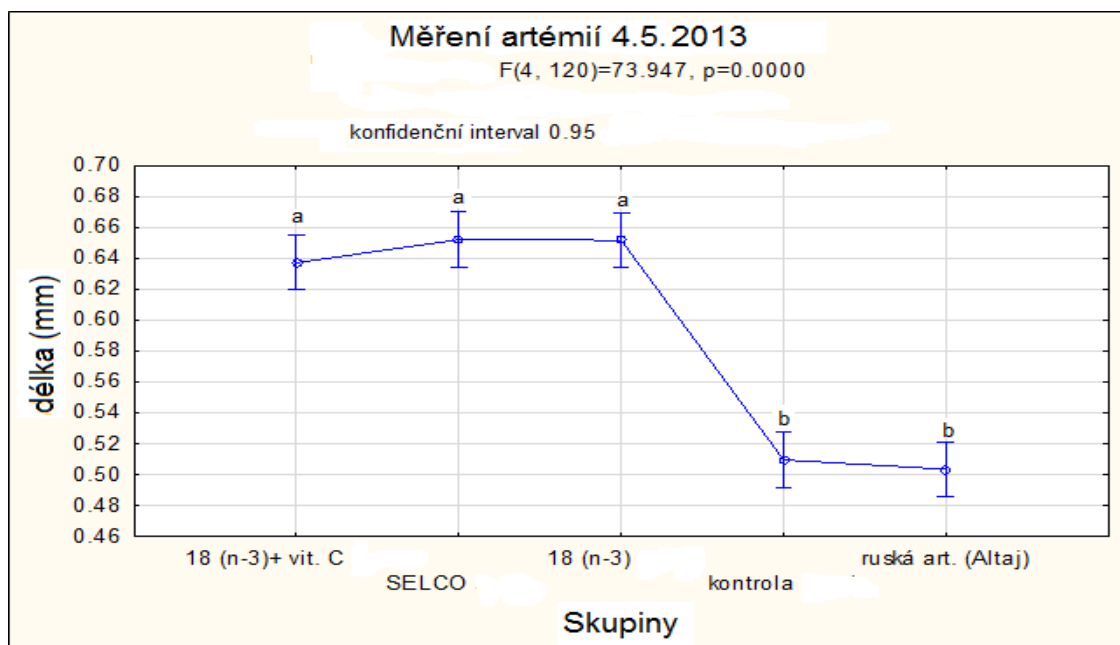
Velikosti artémií byly porovnány jednofaktorovou metodou ANOVA. Ze vzorků odebraných 3.5. 2013 (Graf 4) vykazovaly největší průměrnou délku artémie obohacené přípravkem SELCO ( $0,651 \pm 0,034$  mm), naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u kontrolní skupiny ( $0,5456 \pm 0,048$  mm). Nejmenší délky u obohacených nauplií žábřonožky byly zjištěny u skupiny obohacené (18:3 (n-3); ALA) a vitamínem C ( $0,594 \pm 0,052$  mm). U vzorků odebraných 4.5. (Graf 5) byly největší délky opět naměřeny u přípravku SELCO, avšak hodnoty naměřené u skupiny obohacené 18:3 (n-3); ALA byly téměř totožné (SELCO -  $0,652 \text{ mm} \pm 0,055$  mm; 18:3 (n-3) -  $0,651 \pm 0,047$  mm). Téměř totožné výsledky byly zaznamenány při porovnání ruské artémie z Altaje ( $0,5036 \pm 0,021$  mm) a americké ( $0,5096 \pm 0,056$  mm) (*Artemia franciscana*). Délky artémií v kontrolních skupinách byly statisticky porovnány Studentovým t-testem a naměřené hodnoty ze 3.5. a 4.5. se významně lišily. Průměrná délka neobohacených artémií ze dne 3.5. 2013 byla větší ( $0,5456 \pm 0,048$  mm) než u vzorků ze 4.5. 2013 ( $0,5096 \pm 0,056$  mm) (Graf 6). Artemie z Tumeňe nebyla měřena z důvodu špatné líhivosti při



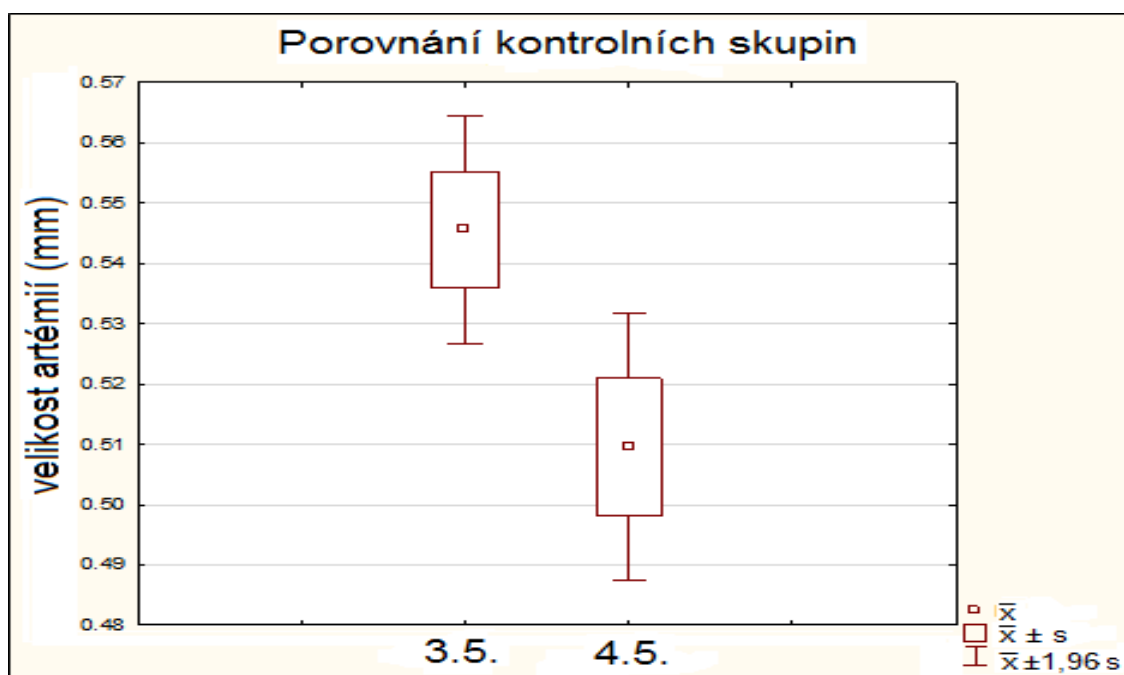
inkubaci (<10 %) a nebyl získán dostatečný počet jedinců na měření. Obohacení artémií mělo signifikantní vliv na jejich velikost v porovnání s kontrolou.



**Graf 4** Délka těla obohacených a neobohacených artémií. Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi skupinami ( $p < 0,01$ ; ANOVA následovaná Tukeyho HSD testem mnohonásobného porovnávání).



**Graf 5** Délka těla obohacených a neobohacených artémií. Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi skupinami ( $p < 0,01$ ; ANOVA následovaná Tukeyho HSD testem mnohonásobného porovnávání).



**Graf 6** Velikost neobohacených artémií v kontrolních skupinách (neobohacená *Artemia franciscana*) ze dne 3.5. a 4.5.2013. (Studentův t-test).

4.3.2. Hmotnostní a délkový růst raného plůdku candáta, míra kanibalismu a preference potravy v rámci jednotlivých skupin (27.4.- 5.5. 2013)

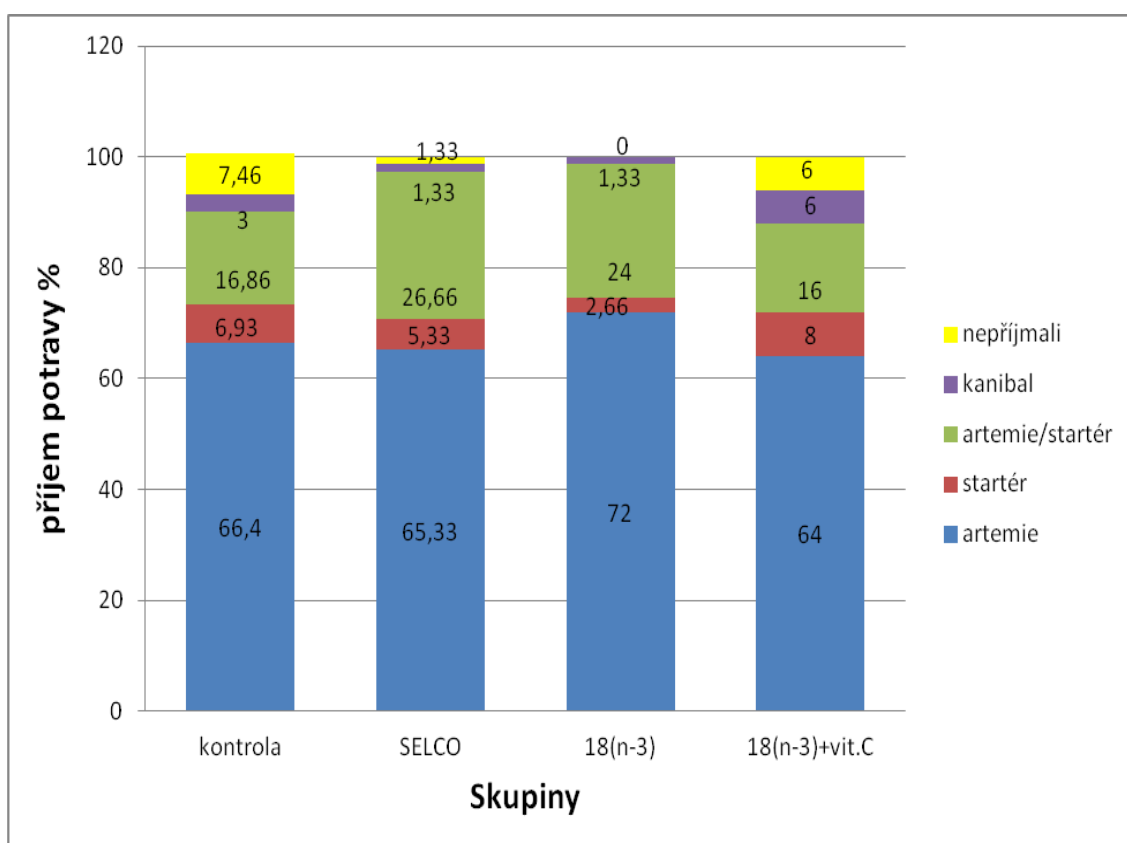
Největšího hmotnostního a délkového růstu v kontrolní skupině dosáhli jedinci, kteří se živili kanibalisticky (kanibal 1: 45 mm, 896,3 mg, kanibal 2: 47 mm, 772mg). Ve skupině SELCO dosáhl největší hmotnosti jedinec živící se artémií a startérovým krmivem (40 mm, 594,1 mg) a jedinec živící se artémiemi (42 mm, 542,2 mg), ve skupině 18 (n-3) byl největší hmotnosti a velikosti kanibal (40 mm, 617,4 mg) a jedinec živící se artémií (42 mm, 514 mg). Ve skupině obohacené kyselinou  $\alpha$ -linolenovou a vitamínem C byla zjištěna podle obsahu trávicího traktu plůdku nejvyšší míra kanibalismu (6 %) a největší jedinci byli kanibalové (40 mm, 725,6 mg a 37 mm, 649,6 mg). U dvou kanibalů ze skupiny obohacené 18 (n-3) + vitamin C byly spočítány ryby v trávicím traktu a zjištěny tyto hodnoty; u většího kanibala 61 kusů ryb a u menšího 46 kusů ryb.

Zjištěnou preferenci potravy plůdku candáta poslední den pokusu v procentech udává (Graf 7). K analýze potravních skupin a kanibalismu byla použita jednofaktorová ANOVA. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami nebyly signifikantní ( $p > 0,05$ ). Nejvyšší

procentuální zastoupení obohacené artémie v potravě vykazovala skupina 18 (n-3) (72 %) a zároveň zde byla patrná i nejnižší úspěšnost přechodu plůdku na startérové suché krmivo (2,66 %) i přesto že ryb živících se startérem a artémií bylo (24 %) což byla druhá nejvyšší hodnota v této kategorii po skupině SELCO (26,66 %).

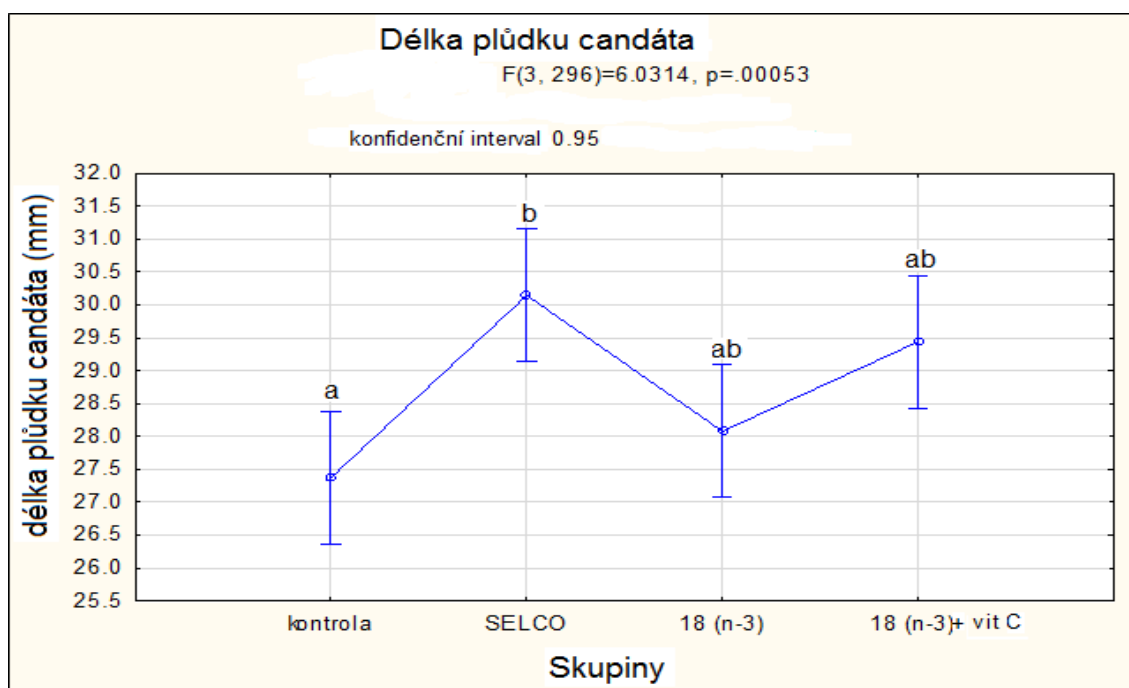
V každé skupině se objevil kanibalismus a u skupin 18(n-3) a SELCO byla míra kanibalismu podle analýzy obsahu trávicího traktu totožná (1,33 %).

Jedinců nepřijímajících žádnou potravu bylo nejvíce v kontrolní skupině (7,46 %) a ve skupině obohacené vitamínem C (6 %). Ve skupině obohacené pouze kyselinou  $\alpha$ -linolenovou všechny ryby přijímaly potravu.

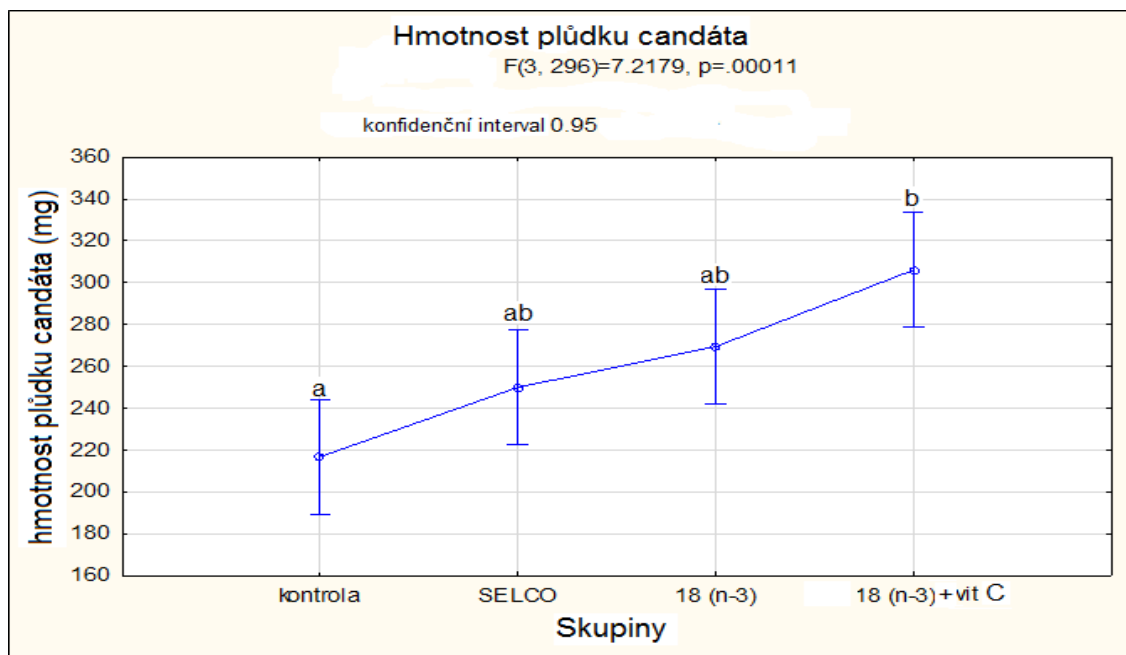


**Graf 7** Procentuální zastoupení jednotlivých složek potravy plůdku candáta a procentuální zastoupení kanibalů v jednotlivých skupinách na základě rozboru potravy v trávicím traktu. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami nebyly signifikantní (jednofaktorová ANOVA,  $p > 0,05$ ).

K analýze hmotnostního a délkového růstu v rámci jednotlivých skupin byla použita jednofaktorová ANOVA následovaná Tukeyeho HSD testem mnohonásobného porovnávání. V obou případech byla zjištěna hodnota  $p < 0,05$ , což indikuje statisticky významné rozdíly mezi skupinami. Při porovnání hmotností plůdku candáta se signifikantně lišila skupina obohacená vitamínem C a kontrolní skupina (Graf 10). Při porovnání délky (Graf 9) se statisticky lišila kontrolní skupina a skupina obohacená přípravkem SELCO. Nejvyšší průměrnou délku měli candáti ve skupině SELCO a nejvyšší hmotnostní růst byl zaznamenán ve skupině obohacené vitamínem C. Průměrná délka ryby v kontrolní skupině byla  $27,37 \pm 1,32$  mm, ve skupině SELCO  $30,13 \pm 2,47$  mm, u skupiny 18 (n-3)  $28,06 \pm 1$  mm a u skupiny obohacené vitamínem C  $29,43 \pm 1,7$  mm. Průměrná hmotnost ryb v kontrolní skupině byla  $216,9 \pm 39,96$  mg, ve skupině SELCO  $249,96 \pm 42,66$  mg, u skupiny 18 (n-3)  $250,56 \pm 47,46$  mg a u skupiny obohacené vitamínem C  $306,16 \pm 64,27$  mg. Celkovou délku plůdku u každé ze 3 nádrží (opakování) z každé skupiny udává tabulka 1, průměrné hmotnosti u každé ze 3 nádrží (opakování) z každé skupiny udává tabulka 2. Tabulka 3 udává průměrný koeficient kondice ryb (Fultonův koeficient) ve všech skupinách.



**Graf 9** Délka plůdku candáta v jednotlivých skupinách. Rozdílná písmena označují statistickou odlišnost mezi skupinami (jednofaktorová ANOVA následovaná Tukeyeho HSD testem mnohonásobného porovnávání,  $p < 0,01$ ).



**Graf 10** Hmotnost plůdku candáta v jednotlivých skupinách. Rozdílná písmena označují statistickou odlišnost mezi skupinami. (jednofaktorová ANOVA následovaná Tukeyeho HSD testem mnohonásobného porovnávání,  $p < 0,01$ ).

**Tab. 1** Celková délka (*l.t.*) plůdku candáta na konci pokusu u jednotlivých skupin.

Celková délka plůdku candáta ( <i>l.t.</i> ) (mm)				
Opakování	kontrola	SELCO	18(n-3)	18(n-3)+vit. C
nádrž 1	27	32,8	27,7	28,3
nádrž 2	28,84	29,7	27,3	28,6
nádrž 3	26,27	27,9	29,2	31,4
průměr	27,37	30,13	28,06	29,43
směrodatná odchylka	1,32	2,47	1	1,7

**Tab. 2** Průměrné hmotnosti plůdku candáta v jednotlivých experimentálních nádržích

Průměrná hmotnost plůdku candáta (mg)				
Opakování	kontrola	SELCO	18(n-3)	18(n-3)+vit. C
nádrž 1	197,1	292	205,1	262
nádrž 2	262,9	251,2	246,8	276,6
nádrž 3	190,7	206,7	299,8	379,9
průměr	216,9	249,96	250,56	306,16
směrodatná odchylka	39,96	42,66	47,46	64,27

**Tab. 3** Fultonův koeficient vyživenosti u jednotlivých skupin

Fultonův koeficient vyživenosti plůdku candáta				
Opakování	kontrola	SELCO	18(n-3)	18(n-3)+vit. C
nádrž 1	1	0,8	1	1,1
nádrž 2	1	0,9	1,2	1,1
nádrž 3	1	1	1,2	1,2
průměr	1	0,9	1,13	1,13
směrodatná odchylka	0	0,10	0,12	0,06

4.3.3. Přežití plůdku candáta po pokusu s obohacenou artémií a zaznamenaná mortalita během experimentu.

Přežití plůdku po experimentu s obohacenými artémiemi udává tabulka 3. Z celkového počtu 3600 nasazených ryb přežilo 737 ryb, což je 20,47 %. Nejvyššího přežití bylo dosaženo u ryb krmených artémiemi obohacenými přípravkem SELCO (28,67 %) v nádrži 1 a 2 (únik z nádrže 3 a kvůli zkreslení výsledků je přežití vypočteno pouze z 2 zbylých nádrží), nejnižší přežití bylo zaznamenáno v kontrolní skupině (14,66 %). Ve skupině obohacené kyselinou  $\alpha$ -linolenovou (27,88 %) a (19%) ve skupině obohacené vitamínem C a kyselinou  $\alpha$ -linolenovou. Zaznamenaná mortalita byla nejvyšší v kontrolní skupině (273 kusů), ve skupině SELCO byla mortalita nejnižší (151 kusů), ale tento údaj je zkreslen únikem ryb 29.4. 2013. Ve dvou zbývajících skupinách byla mortalita podobná (18 (n-3): 201 kusů) a (18 (n-3) + vit. C: 204 kusů). Nejvyšší mortalita byla zaznamenaná 2 dny po nasazení ryb (321 kusů). Celková zaznamenaná mortalita činila na konci pokusu 865 kusů. Zaznamenanou mortalitu popisuje tabulka 5.

**Tab. 4** Přežití plůdku v jednotlivých opakováních (ks, %) , přežití plůdku v každé skupině

Přežití plůdku candáta po experimentu s obohacenými artémiemi					
	kontrola	SELCO	18(n-3)	18(n-3)+vit. C	celkem
nádrž 1	41	95	77	67	
nádrž 2	41	77	92	39	
nádrž 3	50	*11	82	65	
n (ks)	132	183	251	171	737
Přežití (%)	14,66	28,67	27,88	19	20,47
směrodatná odchylka	5,20	12,73	7,64	15,62	

Pozn.: \* 29.4. 2013 došlo k úniku ryb z nádrže 3, % přežití plůdku je kvůli zkreslení výsledků vypočteno pouze ze 2 zbylých nádrží.

**Tab. 5** Zaznamenaná denní mortalita, zaznamenaná celková mortalita v jednotlivých skupinách

	Opakování	27.4.	28.4.	29.4.	30.4.	1.5.	2.5.	3.5.	4.5.	Mortalita v nádrži	celkem
18 (n-3)+ vit.C	1	21	52	10	7	1	6	5	2	104	204
	2	15	25	6	2	1	4	8	10	71	
	3	16	25	6	4	1	3	8	2	65	
Kontrola	1	14	16	15	5	5	16	5	8	84	273
	2	10	35	16	6	7	5	4	6	89	
	3	18	35	5	8	4	16	6	8	100	
18(n-3)	1	12	18	6	5	4	3	0	1	49	201
	2	5	30	19	7	4	9	6	3	83	
	3	15	23	9	2	1	11	6	2	69	
SELCO	1	5	9	7	4	3	2	3	0	33	151
	2	12	16	11	3	2	4	2	1	51	
	3	8	37	10	5	2	3	0	2	67	
	Počet (ks)	151	321	120	58	35	82	53	45	865	

## 5. DISKUZE

### 5.1. Inkubace a porovnání velikosti obohacených a neobohacených artémií

Van Stappen (1996) udává délku neobohacených nauplií americké artémie (*Artemia franciscana*) po inkubaci při 25° C a koncentraci soli 35 g · l<sup>-1</sup> 0,428 mm. V našem experimentu bylo dosaženo vyšší průměrné délky nauplií (3.5. - 0,545 mm a 4.5. - 0,509 mm). Rychlejší délkový růst nauplií byl zapříčiněn pravděpodobně vyšší teplotou vody při inkubaci (27,5° C) a optimální salinitou (koncentrace 20 g · l<sup>-1</sup>). Bylo prokázáno, že vyšší koncentrace soli v inkubační vodě (30 g · l<sup>-1</sup>) neměla vliv na vyšší líhivost artémie oproti koncentraci nižší (20 g · l<sup>-1</sup>).

Bengtson a kol., (1991) udává, že existuje vysoká korelace mezi průměrem cyst a délkou vylíhlých nauplií. Cysty *Artemia franciscana* podle jeho názoru patří velikostně mezi nejmenší, které jsou dostupné na trhu. Van Stappen (1996) zastává názor, že mezi snůškami artémie by neměli být značné velikostní rozdíly. Pokud se ovšem biometrické parametry liší v rámci jednoho kmene artémie, je pravděpodobné, že došlo při inkubaci ke změně podmínek prostředí. To by mohlo vysvětlovat variabilitu v našem pokusu mezi délkou neobohacených nauplií z 3.5. a 4.5 2013. Rozdíl v průměrné délce nauplií u kontrolních skupin byl 0,045 mm.

Podobná variabilita jako u kontrolních skupin byla také zaznamenána u skupin obohacených 18 (n-3) + vit. C. Podle Merchieho (1996) bylo dosaženo vysoké variability v míře obohacení nauplií o mastné kyseliny mezi různými líhněmi, což se projevilo nejen v obsahu mastných kyselin v tělech metanauplií, ale také ve velikosti metanauplií. Variabilita byla zaznamenána i přesto, že proceduru obohacení prováděl stejný člověk za stejných podmínek. V našem experimentu jsme ovšem zaznamenali u skupiny SELCO a 18 (n-3) velmi nízkou variabilitu v délce obohacených metanauplií (0,64- 0,65 mm) během obou dnů. Dalo by se proto předpokládat, že míra obohacení v těchto skupinách byla přibližně stejná, stejně tak jako obsah látek z bioenkapsulačního média v trávicím traktu artémií. Nebyly ovšem provedeny biochemické analýzy obsahu mastných kyselin v trávicím traktu metanauplií, proto toto tvrzení nemůže být podloženo jinými než biometrickými výsledky. Pokus byl proveden pouze ve dvou opakováních a není proto jisté, jestli by bylo dosaženo podobných výsledků i při větším počtu opakování.



## **5.2. Hmotnostní a délkový růst raného plůdku candáta, míra kanibalismu a preference potravy v rámci jednotlivých skupin**

Zakeš (1999) zjistil, že počáteční velikost plůdku je stěžejní při přechodu juvenilů na suché startérové směsi. Větší ryby častěji konzumují startérové krmivo oproti menším. Pokud se velikost odchovávaných ryb významně liší, stoupá i míra kanibalismu. Stejný výsledek byl zaznamenán i ve skupině 18 (n-3)+ vit. C, kde největší procento ryb (8 %) přešlo na suchou startérovou směs, zároveň byla v této skupině zaznamenána i nejvyšší míra kanibalismu (6 %) a nejvyšší hmotnostní růst. Nejvyšší hmotnostní růst je s největší pravděpodobností způsoben vysokou mírou kanibalismu, nicméně Xu a kol., (2003) a Kestermont a kol., (2007) připisují vysoký hmotnostní růst, resistenci vůči stresu a malé procento deformit plůdku obohaceným artémiím o HUFA s přidavkem vitamínu C. Hilge a Steffens, (1996) a Zakeš, (1999) zjistili, že vyšší rychlosti růstu bylo dosaženo u juvenilů přijímající startérové krmivo, oproti jedincům přijímajícím zooplankton. V našem experimentu byla platnost tohoto tvrzení prokázána u skupiny obohacené vitamínem C, ale nikoliv u skupiny 18 (n-3) kde bylo v potravě nejvyšší zastoupení artémie (72 %) a nejnižší zastoupení startérového krmiva (2,66 %) a i přesto dosáhli juvenilové z této skupiny druhé nejvyšší průměrné hmotnosti. Zajímavým zjištěním je také fakt, že v této skupině byla poměrně nízká míra kanibalismu (1,33 %) a proto můžeme vyloučit výrazný vliv na průměrnou hmotnost plůdku.

Naše výsledky také korespondují se studií Kestemonta a kol., (2007) kde bylo dosaženo nejlepších výsledků hmotnostního růstu a příjmu startérové směsi u skupiny s nejvyšší mírou kanibalismu (37 %). V našem případě byla míra kanibalismu nižší. Po skupině 18 (n-3) + vit. C bylo největší procentuální zastoupení ryb přijímajících startérové krmivo v kontrolní skupině (6,93 %). V obou skupinách bylo ovšem nejvyšší zastoupení ryb, s prázdným zažívacím traktem. To je v protikladu se zjištěním u skupiny SELCO a 18 (n-3) kde byla zaznamenána nejnižší míra kanibalismu, nejníže % ryb nepřijímajících potravu a nejvyšší zastoupení ryb přijímajících zároveň artémii i startér. Úspěšnost přechodu na startérové krmivo do ukončení pokusu byla v těchto skupinách sice menší, avšak vysoké procento ryb přijímajících startér v kombinaci s artémií naznačuje, že v pozdějších fázích odchovu by na startérové krmivo hypoteticky mohlo přejít více ryb, než u zbývajících dvou skupin (18 (n-3)+ vit. C a kontrola) a ztráty způsobené kanibalismem by byly nižší. Zakeš (1999) ve své studii

pozoroval, že doba trvání přechodu juvenilů na startérové krmivo trvala od 14 do 28 dnů v závislosti na počáteční velikosti plůdku. V našem experimentu trval co-feeding pouze 4 dny, tzn., že doba přechodu na startérové krmivo byla relativně krátká.

U skupiny SELCO byl zaznamenán nejvyšší délkový růst a podle Tsukamota a kol. (1989) vykazovali delší juvenilní jedinci (40 mm) mořského cejna (*Pagrus major*) o 49 % vyšší přežití než jedinci menší (20 mm). To ovšem neplatí ve studii Policara a kol. (2013) kde bylo zjištěno, že u delších juvenilů candáta (*l.t.* 56,2 ± 2,7 mm a 71.0 ± 3.2 mm) bylo zaznamenáno nižší přežití, vyšší míra kanibalismu a signifikantně nižší specifická rychlost růstu ve srovnání s juvenilny menšími (*l.t.* 40,3 ± 2,3 mm).

### **5.3. Přežití plůdku candáta a zaznamenaná mortalita**

Podle Ljungrenna a kol. (2002) je plůdek candáta velmi citlivý na jakoukoliv manipulaci a tato manipulace zvyšuje jeho mortalitu. To bylo bohužel potvrzeno i v našem pokusu. Vzhledem k velikosti obohacených metanauplií a neschopnosti larev candátů přijmat tuto potravu díky malé ústní dutině v larvální periodě byl samotný pokus odložen a bylo nutné přeživší candáty po první fázi odchovu přelovit a spočítat pro znovunasazení do experimentu s obohacenou artémií. To mělo za následek vysokou mortalitu v prvních 3 dnech po zahájení pokusu (zaznamenaná mortalita: 1. den 151 ks, 2. den 321 ks a 3. den 120 ks). Kestemont a kol. (2003) doporučují ryby v larvální periodě netřídit a předejít jakékoliv manipulaci s larvami.

Přežití plůdku ve skupinách obohacených různými emulzemi bylo přibližně dvakrát vyšší (28,67 % - SELCO a 27,88 % u 18 (n-3)) než u kontrolní skupiny (14,66 %) s výjimkou skupiny obohacené vitamínem C (19 %). Dhert a kol. (1990) zjistili ve studii s larvami baramundi (*Lates calcalifer*), že obohacení artémií mastnými kyselinami sice nemá významný vliv na snížení celkové mortality, nicméně obohacená artémie má vliv na přežití plůdku ve srovnání s neobohacenou artémií. Bylo zjištěno, že larvy baramundi krmené obohacenou artémií byly odolnější vůči stresu. Lund a kol., (2012) předpokládají, že plůdek candáta má obdobné nároky na obsah mastných kyselin v potravě (především DHA) jako plůdek mořských ryb. Zjistili také, že u ryb, které byly vystaveny zvýšené salinitě vody byla zjištěna vyšší mortalita především u skupiny, která nebyla krmena artémií obohacenou o HUFA. Je možné, že i v našem experimentu mohla být mortalita zapříčiněna zvýšenou koncentrací soli v odchovných nádržích v důsledku dlouhodobého krmení artémií pravděpodobně s výraznějším vlivem na

kontrolní neobohacenou skupinu. Další možná příčina úhynu ryb by mohla být kontaminace vody a především povrchové blanky mastnými kyselinami v důsledku nedokonalého promytí obohacených artémií.

K naplňování plynového měchýře dochází maximálně do 12. dne vývoje plůdku. (Demska-Zakeš a kol., 2003). Nicméně mortalita v pokusu s obohacenou artémií mohla být také způsobena nenaplněním plynového měchýře, protože ryby s nenaplněným plynovým měchýřem nehynou ihned, ale až po určité době. V důsledku nenaplnění u nich dochází k deformacím páteře, jako je například lordóza a skolióza. Takto postižené ryby poměrně ve vysokém počtu byly pozorovány i v době experimentu s obohacenou artémií a ovlivnily zaznamenanou mortalitu. Nelze ovšem vyloučit negativní vliv samotných reziduí z obohacovací emulze a případně vliv rozkládajícího se nespotřebovaného startérového krmiva na dně nádrže, ačkoliv během pokusu s obohacenou artémií byly nádrže ráno i večer čištěny.

#### **5.4. Vliv rozpuštěného kyslíku, teploty a pH na pokus s obohacenou artémií**

Hodnoty pH se pohybovaly během celého experimentu v rozmezí pH 7 - 7,5, což je optimální rozmezí pro chov plůdku.

Teplota vody byla po dobu pokusu konstantní v rozmezí 20-22 ° C kromě 1. dne (27.4.), kdy se lišila teplota vody ráno a večer o 3° C (ráno 22,5 °C a večer 25,4 °C). Protože plůdek ryb nesnáší náhlé změny teploty o 1,5 až 3° C, mohla být tato změna teploty příčinou zvýšeného úhynu juvenilního candáta v prvních dnech po přelovení (26.4.). Zakeš (1999) udává optimální teplotu pro odchov plůdku candáta 22° C, kdy bylo v porovnání s teplotou vody 24 ° C dosaženo dvakrát až třikrát vyššího přežití plůdku. Při teplotě vody 24 ° C byla také zaznamenána vyšší mortalita. Kuipers a Summerfeldt, (1994) doporučují počáteční odchov candáta severoamerického (*Sander vitreus*) při teplotě vody 20 ° C.

Obsah rozpuštěného kyslíku se pohyboval po většinu času v rozmezí 7,5 - 8 mg · l<sup>-1</sup>, ale opět můžeme zaznamenat nejvyšší kolísání v prvních 2 dnech, kdy 27.4. byl naměřen obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě nejnižší (7 mg · l<sup>-1</sup>) pravděpodobně v důsledku vyšší metabolické aktivity ryb po přelovení a 28.4. kdy byl zaznamenán naopak nejvyšší obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě (8,5 mg · l<sup>-1</sup>).

## 6. ZÁVĚR

Experiment s plůdkem candáta posloužil jednak k ověření možnosti jeho odchovu v kontrolovaných podmínkách od začátku larvální periody do začátku juvenilní periody. Dalším cílem bylo zhodnotit vliv obohacených metanauplií artémie jako potravy plůdku candáta na jeho délkový a hmotnostní růst a účinnost adaptace na startérovou krmnou směs. Bylo potvrzeno, že plůdek candáta je velmi citlivý na jakoukoliv manipulaci. V tomto ohledu, ale také v jiných ohledech jako jsou různé problémy s odchovem od syndromu nenaplňování plynového měchýře, malé velikosti ústní dutiny v larvální periodě, nutnosti odkrmu od počátku živou potravou až po vysokou míru kanibalismu můžeme konstatovat, že odchov raného candáta obecného je velmi podobný ranému odchovu mořských druhů ryb.

Nejvyššího přežití bylo dosaženo u ryb krmných artémiemi obohacenými přípravkem SELCO (28,67 %), u ryb krmných naupliemi obohacenými kyselinou  $\alpha$ -linolenovou (27,88 %), resp. obohacených vitamínem C a kyselinou  $\alpha$ -linolenovou (19,00 %). Nejnížší přežití bylo zaznamenáno v kontrolní skupině (14,66 %). Nejvyšší průměrné kusové hmotnosti plůdku na konci pokusu bylo dosaženo u skupiny krmené 306,16  $\pm$  64,27 mg, nejnižší u kontrolny 216,9  $\pm$  39,96 mg. Největší dosažená průměrná celková délka plůdku (*l.t.*) byla u skupiny SELCO 30,13  $\pm$  2,47 mm, nejnižší u kontroly 27,37  $\pm$  1,32 mm. Nejvyššího zastoupení jedinců přijímajících startérovou krmnou směs bylo dosaženo u skupiny krmené metanauplii obohacenými o vitamín C (8 %), zároveň ale byla zjištěna i nejvyšší míra kanibalismu (6 %).

Bylo prokázáno, že přežití bylo signifikantně ovlivněno obohacením potravy candáta mastnými kyselinami a to se projevilo v dvojnásobném přežití oproti kontrolní skupině. Z tohoto důvodu můžeme doporučit obohacování artémie jako účinný prostředek k dosažení lepších výsledků v raném odchovu plůdku sladkovodních ryb, které jsou náročnější na odchov, jako jsou například okounovité a jeseterovité druhy. Ukazuje se, že vážným problémem může být značná velikost nauplií artémií, které nejsou larvy candáta na samém počátku příjmu potravy schopny přijmout. Proto se nabízí úvaha, použít jako první potravu vířníky a následně přejít na nauplia artémie (tato varianta nebyla použita). Použití obohacených nauplií artémie při odkrmu plůdku candáta nebylo doposud popsáno. K optimalizaci technologie odchovu raného plůdku candáta je proto nutná další práce v tomto směru.

## 7. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Abi- Ayad, S.M.E.A., Mélard, C., Kestermont, P., 1997. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquaculture International* 5, 161-168.
- Adamek, J., Kamler, E., Epler, P., 2011. Uniform maternal age/size and light restrictions mitigate cannibalism in *Clarias gariepinus* larvae and juveniles reared under production-like controlled conditions. *Aquacultural Engineering* 45, 13-19.
- Adámková, I., 1999. Postup dekapulace trvalých vajíček artémie a jejich použití v akvakultuře. *Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 58, 10 s.*
- Baas-Becking, L. G. M., 1931. Historical notes on salt and salt-manufacture. *The Scientific Monthly*. 32 (5), 434–446.
- Baránek V., Mareš J., Spurný P., Prokeš M., Baruš V., Němec R., 2004. Chov násadového materiálu candáta obecného (*Sander lucioperca*) v kontrolovaných podmínkách (předběžné výsledky). In: Spurný, P. (Ed.), „55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně“, Sb. referátů z konference s mezinárodní účastí, ÚRH MZLU v Brně, Brno 2004, s. 99-104.
- Baránek, V., Mareš, J., Jirásek, J., Spurný, P., Cileček, M., Brabec, T., Dvořák, J. 2006. Problematika odchovu a výživy násadového materiálu candáta obecného (*Sander lucioperca*) v kontrolovaných podmínkách intenzivní akvakultury. In: *MendelNet'06 Agro - sborník z mezinárodní konference posluchačů postgraduálního doktorského studia*. MZLU v Brně: Ediční středisko MZLU v Brně, s. 41.
- Baránek, V., Dvořák, J., Kalenda, V., Mareš, J., Zrůstová, J., Spurný, P., 2007. Comparison of two weaning methods of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) from natural diet to commercial feed. In: *MendelNet'07 Agro - sborník z mezinárodní konference posluchačů postgraduálního doktorského studia.*, MZLU v Brně, Brno 2007, s. 45.
- Baras, E., Kestermont, P., Mélard, C., 2003. Effects of stocking density on the dynamics of cannibalism in sibling larvae of perca fluviatilis under controlled conditions. *Aquaculture* 219, 241-255.
- Barrows, F. T., Lellis, E. A., Nickum, J.G., 1988. Intensive culture of larval walleyes with dry or formulated feed: note on swim bladder inflation. *Prog. Fish. Cult.* 50, 160-166.

- Barrows, F. T., Zitzow, R. E., Kindschi, G. A., 1993. Effects of surface water spray, diet, and phase of feeding on swim bladder inflation, survival, and cost of production of intensively reared larval walleyes. *The Progressive Fish-Culturist*, 55, 224-228.
- Baruš, V., Oliva, O. (eds.), 1995. *Mihulovci a ryby 1 a 2*. Academia Praha, 624 a 698 s.
- Bell, M.V., Tocher, D.R., 1989. Molecular species composition of the major phospholipids in brain and retina from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Biochem. J.* 264, 909-915.
- Bell, J. G., Mc Evoy, L. A., Estevez, A., Shields, R. J., Sargent, J. R., 2003. Optimizing lipid nutrition in first feeding flatfish larvae. *Aquaculture* 227, 211-220.
- Bengtson, D.A., Léger, P., Sorgeloos, P. 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. In: *Artemia Biology*. Browne, R.A., P. Sorgeloos and C.N.A. Trotman (Eds.), CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, s. 225-285.
- Berka, R., Hamáčková, J., 1980. Chov štiky a candáta. *Stud. Inform., ÚVTIZ, Živ. Výroba*, 80 s.
- Bódis, M., Kucska, B., Bercsényi, M., 2007. The effect of different diets on the growth and mortality of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in the transition from live food to formulated feed. *Aquaculture International* 15, 83-90.
- Boggs, Ch. T., Summerfeldt, R. C., 2003. Enhancing gas bladder inflation in larval walleye: Comparison of two methods for removing an oily film from the water surface of culture tanks. In: Barry, Terence P.; Malison, Jeffrey A., (Eds.), PERCIS III, the Third International Percid Fish Symposium, Madison, USA, s. 19-20.
- Boglino, A., Darias, M.J., Ortiz-Delgado, J.B., Özcan, F., Estévez, A., Karl, A., Hontoria, F., Gisbert E., 2012. Commercial products for *Artemia* enrichment affect growth performance, digestive system maturation, ossification and incidence of skeletal deformities in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture* 324–325, s. 290–302.
- Brown, P.B., Barrows, F.T., 2002. Percids. In: Webster, C.D., Lim, C.E., (eds.) *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*, CABI Publishing, New York, s. 219-229.

- Buchal, M., Langdon C., 1998. Evaluation of lipid spray beads for the delivery of water-soluble materials to a marine suspension-feeder, the Manila clam *Tapes philippinarum*. *Aquac. Nutr.*, 4, pp. 265-284.
- Buzzi, M., Henderson, R. J., Sargent, J. R., 1996. The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Biochimica Biophysica Acta* 1299, 235–244.
- Buzzi, M., Henderson, R.J., Sargent, J.R., 1997. The biosynthesis of docosahexaenoic acid 22:6 (n-3) from linolenic acid in primary hepatocytes isolated from wild northern pike. *Journal of Fish Biology* 51, 1197-1208.
- Cuvier-Péres, A., Kestemont, P., 2002. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 24, 279-285.
- Criel, G. R. J., Macrae, T., H., 2002. Reproductive biology of *Artemia*. In: Abatzopoulos, Th. J., Beardmore, J. A., Clegg, J.S., Sorgeloos, P. (Eds.), *Artemia: Basic and Applied Biology*, Springer, Netherlands, pp. 39-128.
- Demska-Zakeś, K., Kowalska, A., Zakeś, Z., 2003. The development of the swim bladder of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) reared in intensive culture. *Arch. Pol. Fish.* 11, 45-55.
- Dhert, P., Lavens, P., Duray, M., Sorgeloos, P., 1990. Improved larval survival at metamorphosis of Asian seabass (*Lates calcarifer*) using  $\omega$ -3-HUFA enriched live food. *Aquaculture* 90, 63-74.
- Dil, H., 2008. The European market of the pikeperch for human consumption. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds.), *Proceeding of Percid Fish Culture from Research to Production*, Universitaires de Namur, s. 15-16.
- Egloff, M., 1996. Failure of swim bladder inflation in perch, *Perca fluviatilis* L. found in natural populations. *Aquatic Sciences* 58, 15-23.
- Eyjemo, J.O., Danielsen, T.L., Olsen, Y., 2001. Losses of lipid, protein and n-3 fatty acids in enriched *Artemia franciscana* starved at different temperatures. *Aquaculture* 193, 65-80.

- Flüchter, J., 1980. Review of the present knowledge of rearing whitefish (Coregonidae) larvae. *Aquaculture* 19, 191-208.
- Garcia, V., Celada, J.D., Corral, J. M., González, A., González, M., Sáer-Royuela, M., 2011. A comparative study of different preparations of decapsulated *Artemia* cysts as food for tench (*Tinca tinca* L.) larvae. *Anim. Feed Sci. Tech.* 170, 72-77.
- Gelabert, R.F. ,2001. *Artemia* bioencapsulation 1. Effect of particle sizes on the filtering behavior of *Artemia franciscana*. *J. Crust. Biol.* 21, 435-442.
- Gomez-Gil, B, Herrera-Vega, M.A., Abreu-Grobois, F. A., Rogue, A., 1998. Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2318–2322.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Prokeš, M., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., Stanny, L.A., 2007. Success of nursing ide (*Leuciscus idus*, L.) fry related to the period of feeding with live food. *Aquacult. Int.* 15, 255-265.
- Hamáčková, J., Prokeš, M., Kozák, P., Peňáz, M., Stanny, L.A., Policar, T., Baruš, V., 2009. Growth and development of vimba bream (*Vimba vimba*) larvae in relation to feeding duration with live/or dry starter feed. *Aquaculture* 287, 158-162.
- Hamre, K., Yufera, M., Rønnestad, I., Boglione, C., Conceicao, L.E.C., Izquierdo, M., 2012. Fish larval nutrition and feed formulation—knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture* 5, 26-58.
- Hamza N., Mhetli, M., Kestermont, P., 2007. Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 33, 121-133.
- Hamza N., Mhetli, M., Ben Khemis, I., Cahu, Ch., Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 275, 274-282.
- Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P., 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 13, 335-347.
- Hilge, V., Steffens, W., 1996. Aquaculture of fry and fingerling of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.) – a short review. *Journal of Applied Ichthyology* 12, 167- 170.



- Hofmann J., Novák J. , 1996. Akvaristika. X-Egem, Praha, 197 s.
- Immanuel, G., Citarasu, T., Sivaram, V., Selva Shankar, V., Palavesam, A., 2007. Bioencapsulation strategy and highly unsaturated fatty acids (HUFA) enrichment in *Artemia franciscana* nauplii by using marine trash fish *Odonus niger* liver oil. Afr. J. Biotechnol. 6, 2043-2053.
- Jaquemond, F., 2004a. Sorting Eurasian perch fingerlings (*Perca fluviatilis* L.) with and without functional swim bladder using tricaine methane sulfonate. Aquaculture 231, 249-262.
- Jaquemond, F., 2004b. Separated breeding of perch fingerlings (*Perca fluviatilis* L.) with and without initial inflated swim bladder: comparison of swim bladder development, skeleton conformation and growth performances. Aquaculture 239, 261-273.
- Kamler, E., 2008. Resource allocation in yolk-feeding fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 18, 143-200.
- Kestemont, P., Vandeloise, E., Melárd, C., Fontaine, P., Brown, P. B., 2001. Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxygquin. Aquaculture 203, 85- 99.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., Mélard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuvier, A., Kentouri, M., Baras, E., 2003. Size heterogeneity cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences, Aquaculture 227, 333-356.
- Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., Imorou Toko, I., 2007. Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. Aquaculture 264 , s. 194–204.
- Klimeš, J., Kouřil, J., 2003. Odchov rychleného plůdku a ročka candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Bull. VÚRH Vodňany, 39, 43-48.
- Kuipers, K. L., Summerfeldt, R. C., 1994. Converting pond-reared walleye fingerlings to formulated feeds: effect on diet, temperature and stocking density. J. App. Aquaculture 4, 31-57.
- Lakshmanasenthil, S., Vinothkumar ,T., Geetharamani, D., Maruthupandi, T., 2013. Influence of micro algae in enrichment of *Artemia salina* for aquaculture feed enhancement. J. Algal Biomass Utiln. 4, 67–73.

- Langdon, C.L., Nordgreen, A., Hawkyard, M., Hamre, K., 2008. Evaluation of wax spray beads for delivery of low-molecular weights and water-soluble nutrients and antibiotics to *Artemia*. *Aquaculture* 284, 151-158.
- Léger, P., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P., 1986. The use and nutrition value of *Artemia* as food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24, 521-623.
- Léger, P., Bengtson, D.A., Sorgeloos, P., Simpson, K.L., Beck, A.D., 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review. In: Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W., Jaspers, E. (Eds.), *Artemia* research and its applications, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, vol. 3 Universa Press, Wetteren, pp. 357-372.
- Ljungrenn, L., 2002. Growth response of pikeperch larvae in relation to body size and zooplankton abundance. *Journal of Fish Biology* 60, 405–414.
- Ljunggren, L., Staffan, F., Falk, S., Lindén, B., Mendes, J., 2003. Weaning of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L., and perch, *Perca fluviatilis* L., to formulated feed. *Aquaculture Research*, 34, 281-278.
- Lund, I., Steinfeldt, S. J., 2011. The effects of dietary long-chain essential fatty acids on growth and stress tolerance in pikeperch larvae (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture Nutrition* 17, 191-199.
- Lund, I., Skov, P.V., Hansen, B.W., 2012. Dietary supplementation of essential fatty acids in larval pikeperch (*Sander lucioperca*); short and long term effects on stress tolerance and metabolic physiology. *Comp. Biochem. Phys. A* 162, 340-348.
- Lusk, S., Heteša, J., Hochman, L., Král, K. (1983). Účelové rybí obsádky v údolních nádržích. *Hydroprojekt Brno*, Vývoj č. 6, 110 pp.
- Marty, G.D., Hinton, D.E., Summerfelt, R.C., 1995. Histopathology of swimbladder noninflation in walleye (*Stizostedion vitreum*) larvae: role of development and inflammation. *Aquaculture* 138, 35-48.
- McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Bell, J.G., Sargent, J.R., 1995. Autoxidation of oil emulsions during the *Artemia* enrichment process. *Aquaculture* 134, 101-112.
- Mc Evoy, L.A., Navarro, J.C., Amat, F., Sargent, J.R., 1997. Application of soya phosphatidylcholine in tuna orbital oil enrichment emulsions for *Artemia*. *Aquaculture* 5, 517-526.

- Mélar, C., Baras, E., Mary, L., Kestemont, P., 1996. Relationships between stocking density, growth, cannibalism and survival rate in intensively cultured larvae and juveniles of perch (*Perca fluviatilis*). *Ann. Zool. Fenn.* 33, 643–651.
- Merchie, G., 1996. Use of nauplii and metanauplii. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. FAO, Rome, s.79 -106.
- Mock, C.R., Revera, D.L., Fontaine, C.T., 1980. Preliminary observations on the larval culture of *Penaeus stylirostris* using modifications of the Galveston technique. *Proc. World Maricult. Soc.*, 11,102-117.
- Molnár, T., Hancz, Cs., Molnár, M., Horn, P., 2004 a. The effects of diet and stocking density on the growth and behaviour of pond pre-reared pikeperch under intensive conditions. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 105-109.
- Molnár, T., Hancz, Cs., Bódis, M., Müller, T., Bercsényi, Horn, P., 2004b. The effect of initial stocking density on growth and survival of pike-perch fingerlings reared under intensive conditions. *Aquaculture International* 12, 181-189.
- Monroig, Ó., Navarro, J.C., Amat, I., González, P., Amat, F., Hontoria, F., 2003. Enrichment of *Artemia* nauplii in PUFA, phospholipids, and water-soluble nutrients using liposomes. *Aquac. Int.*, 11, s. 151-16.
- Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., González, P., Hontoria, F., 2006 . Effects of naupliar density product concentration and product dosage on the survival of the nauplii and EFA incorporation during *Artemia* enrichment with liposomes. *Aquaculture* 261, 659-669.
- Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., González, P., Hontoria, F., 2007. Oxidative stability and particle changes in size of liposomes used in the *Artemia* enrichment. *Aquaculture* 266, 200-210.
- Morris, J.E., Afzelius, B.A., 1967. The structure of the shell and outer membranes in encysted *Artemia salina* embryos during cryptobiosis and development. *J. Ultrastruct. Res.*, 20, 244- 259. In: Adámková, I., 1999. Postup dekapsulace trvalých vajíček artémie a jejich

- použití v akvakultuře. Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 58, 10 s.
- Musil, J., Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), VÚHR JU, Vodňany, č. 76, 16 s.
- Navarro, J. C., Henderson, R. J., Mc Evoy, L. A., Bell, M. V., Amat, F., 1999. Lipid conversion during enrichment of *Artemia*. *Aquaculture* 174, 155-156.
- Nordgreen, A., Hamre, K., Langdon, C., 2007. Development of lipid microbeads for delivery of lipid and water-soluble materials to *Artemia*. *Aquaculture*, 273, s. 614-623.
- Nyina-Wamwiza, L., Xu L. X., Blanchard G., Kestemont P., 2005. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquaculture Research* 36, 486-492.
- Önal, U., Langdon, C., 2004. Lipid spray beads for delivery of riboflavin to first-feeding fish larvae. *Aquaculture*, 233, s. 477-493.
- Ostaszewska, T., 2005. Developmental changes of digestive system structures in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Elec. J. Ichtyol.*, 2, 65-68.
- Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Czuminska, K., Olech, W., Olejniczak, M., 2005. Rearing of pikeperch larvae using formulated diets—first success with starter feeds. *Aquacult. Res.*, 36, 1167–1176.
- Patra, S.K., Mohamed, 2003. Enrichment of *Artemia* with the probiotic yeast *Saccharomyces boulderdii* and its resistance against pathogenic *Vibrio*. *Aquaculture* 11, 505-514.
- Peterka, J., Matěna, J., Lipka, J., 2003. The diet and growth of larval and juvenile pikeperch (*Stizostedion lucioperca*): A comparative study of fishponds and reservoir. *Aquaculture International* 11, 337-348.
- Phillipsen, A., 2008. Excellence Fish: production of pikeperch in recirculating system. In: Fontaine, P., Kestermont, P., Teletchea, F., Wang, N., (Eds.), *Proceedings of Percid Fish Culture from Research to Production*, Universitaires de Namur, s. 67.
- Polícar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Musil, J., Kouřil, J., 2007. Effects of short time *Artemia* spp. feeding in larvae and different rearing environments in juveniles of common barbel (*Barbus barbus*) and their growth and survival under intensive controlled conditions. *Aquat. Living Resour.* 20, 175-183.

- Polícar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S. M. H., Kouřil, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany, č. 89, 51 s.
- Polícar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V., 2011. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany, č. 110, 46 s.
- Polícar, T., Stejskal, V., Křišťan, J., Podhorec, P., Švinger, V., Bláha, M., 2013. The effect of fish size and stocking density on the weaning success of pond-cultured pikeperch *Sander lucioperca* L. juveniles. *Aquaculture International* 21, 869 - 882.
- Rocha, M.S., Garcia, E.C., Henriques, H.F., 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomol. Eng.* 20, 237-242.
- Ruiz, O., Medina, G.R., Cohen, G., Amat, F., Navarro, J.C., 2007. Diversity of the fatty acid composition of *Artemia* sp. cysts from Argentinean populations. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 335, 155-165.
- Schultz, C., Knaus, U., Wirth, M., Rennert, B., 2005. Effects of varying dietary fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue composition of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture Nutrition* 11, 403-413.
- Schultz, C., Bohm, M., Wirth, M., Rennert, B., 2007. Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). *Aquaculture Nutrition* 13, 373-380.
- Skudlarek, M., Zakeš, Z., 2007. Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions *Aquacult. Int.*, 15, 67-81.
- Smith, C., Reay, P., 1991. Cannibalism in teleost fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1, 41-64.
- Sorgeloos, P., 1972. The influence of light on the growth of larvae of the brine shrimp, *Artemia salina* L. *Biol. Jaarb.*, 40, 317-322.
- Sorgeloos, P., Persoone, G., 1975. Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans. II. Hatching and culturing of the brine shrimp, *Artemia salina* L. *Aquaculture* 6, 303-317.

- Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Laviña, E., Baez-Mesa, M., Persoone, G., 1977. Decapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp for aquaculture. *Aquaculture* 12, 311-315.
- Sorgeloos, P., Coutteau, P., Dhert, P., Merchie, G., Lavens, P., 1998. Use of brine shrimp *Artemia* spp. in larval crustacean nutrition: a review. *Reviews in Fisheries Science* 6, 55-68.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P., 2001. Use of brine shrimp, *Artemia* spp. in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200, 147-159.
- Steenfeldt S., Lund I., Hoglund E., 2010. Is batch variability in hatching time related to size heterogeneity and cannibalism in pikeperch (*Sander lucioperca*) *Aquaculture Research* 42, 727-732.
- Steffens, W., Geldhauser, F., Gerstner P., Hilge V., 1996. German experiences in the propagation and rearing of fingerling pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). *Annales Zoologici Fennici* 33, 627-634.
- Steffens, W., 1960. Ernährung und Wachstum des jungen Zanders (*Lucioperca lucioperca* (L.)) in Teichen. *Z. Fischerei N. F.* 9, 161-271.
- Stejskal, V., Kouřil, J., 2006. Potravní adaptace plůdku okouna na podmínky intenzivního chovu, *Bulletin VÚRH Vodňany* 42, 18-24.
- Stejskal, V., Polícar, T., Musil, J., Kouřil, J., 2007. Adaptace různých velikostí plůdku okouna na umělé krmivo, *Bulletin VÚRH Vodňany* 43, 41-46.
- Stejskal, V., Polícar, T., Bláha, M., Křišťan, J., 2010. Produkce tržního okouna říčního (*Perca fluviatilis*) kombinací rybničního a intenzivního chovu. Edice metodik (Technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 105, 34 s.
- Szczepkowski M., Zakes Z., Szczepkowska B., Piotrowska I., 2011. Effect of size sorting on the survival, growth and cannibalism in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) larvae during intensive culture in RAS. *Czech J. Anim. Sci.* 56, 483-489.
- Tait, J. S., 1960. The first filling of the swim bladder in Salmonids. *Can. Jour. Zool* 38, 179-186. In: Demska-Zakes, K., Kowalska, A., Zakes, Z., 2003. The development of the swim

- bladder of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) reared in intensive culture. Arch. Pol. Fish.11, 45-55.
- Tocher, D.R., Mourente, G., Sargent, J.R., 1997. The use of silages prepared from fish neural tissues as enrichers for rotifers (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* in nutrition of larval marine fish . Aquaculture 148, 213- 231.
- Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. Aquaculture Research 41, 717-732.
- Tsukamoto,K., Kuwada, H., Hirokawa, J., Oya, M., Sekiya, S., Fujimoto, H., Imaizumi K.,1989.Size-dependent mortality of red seabream,*Pagrus major*,juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. J. Fish. Biol. 35a, 59-69.
- Van Stappen, G.,1996. *Artemia*. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: Lavens, P., Sorgeloos,P., (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. FAO, Rome, s. 79-106.
- Vismara, R.,Vestri, S., Kusmic,C., Barsanti, L., Gualtieri, P., 2003. Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. J. Appl. Physiol. 15, 75-80.
- Wang, N., Mandik, S. M. N., Henrotte, E., Bouyahia, A. B., Mairesse, G., Rougeot, C., Melard, C., Kestermont, P., 2009. Effects of partial or total replacement of forage fish by a dry diet on quality of reproduction in pikeperch, *Sander lucioperca*, Aquaculture Research 40, 376-383.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C., Fukusho, K., Fujita, S., 1978. Nutritional quality of living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 44, 1223–1227. In: Ruiz, O., Medina, G.R., Cohen, G., Amat, F., Navarro, J.C., 2007. Diversity of the fatty acid composition of *Artemia* sp. cysts from Argentinean populations. Mar. Ecol. Progr. Ser. 335, 155–165.
- Wirth, M., Steffens, W., Meinelt, T., Steinberg, C., 1997. Significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Fett. 99, 251-253.

- Wysujack, K., Kasprzak, P., Laude, U., Mehner, T., 2002. Management of pikeperch stocking in a long-term biomanipulated stratified lake: efficient predation vs. low recruitment. *Hydrobiologia* 479, 169-180.
- Xu, X., Moboudou, J., Imorou Toko, I., Kestermont, P., 2003. Larval study on pikeperch *Stizostedion lucioperca*: effects of weaning age and diets (live and formulated) on survival, growth, cannibalism, deformity and stress resistance. In: Barry, Terence P.; Malison, Jeffrey A., (eds.), *PERCIS III, the Third International Percid Fish Symposium, Madison, USA*, s. 55-56.
- Zakeś, Z., 1999. The effect of body size and water temperature on the results of intensive rearing of pike-perch, *Stizostedon lucioperca* (L.) fry under controlled conditions. *Arch. Ryb. Pol.* 7, 187-199.



## 8. PŘÍLOHY



**Obr. 6** Recirkulační systém s 12 odchovnými nádržemi



**Obr. 7** Odchovné nádrže, pohled shora, detail přítoku i odtoku vody



**Obr. 8** Recirkulační systém ze zadní strany, pod odchovnými nádržemi je umístěna odtoková nádrž s filtračním materiálem a čerpadlem.



**Obr. 9** Rané larvální stádium candáta obecného (stáří 3 dph )





**Obr. 10** Inkubace artémie



**Obr. 11** Inkubační lahve zavěšené na stěny akvária, vzduchovací hadičky



**Obr. 12** Candát s nenaplněným plynovým měchýřem, malformace páteře, prodloužená mandibula



**Obr. 13** Nahoře - candát ve stáří 14 dnů po vykultení (14 dph) , dole - candát ve stáří 19 dnů po vykultení (19 dph) s patrným naplněným plynovým měchýřem

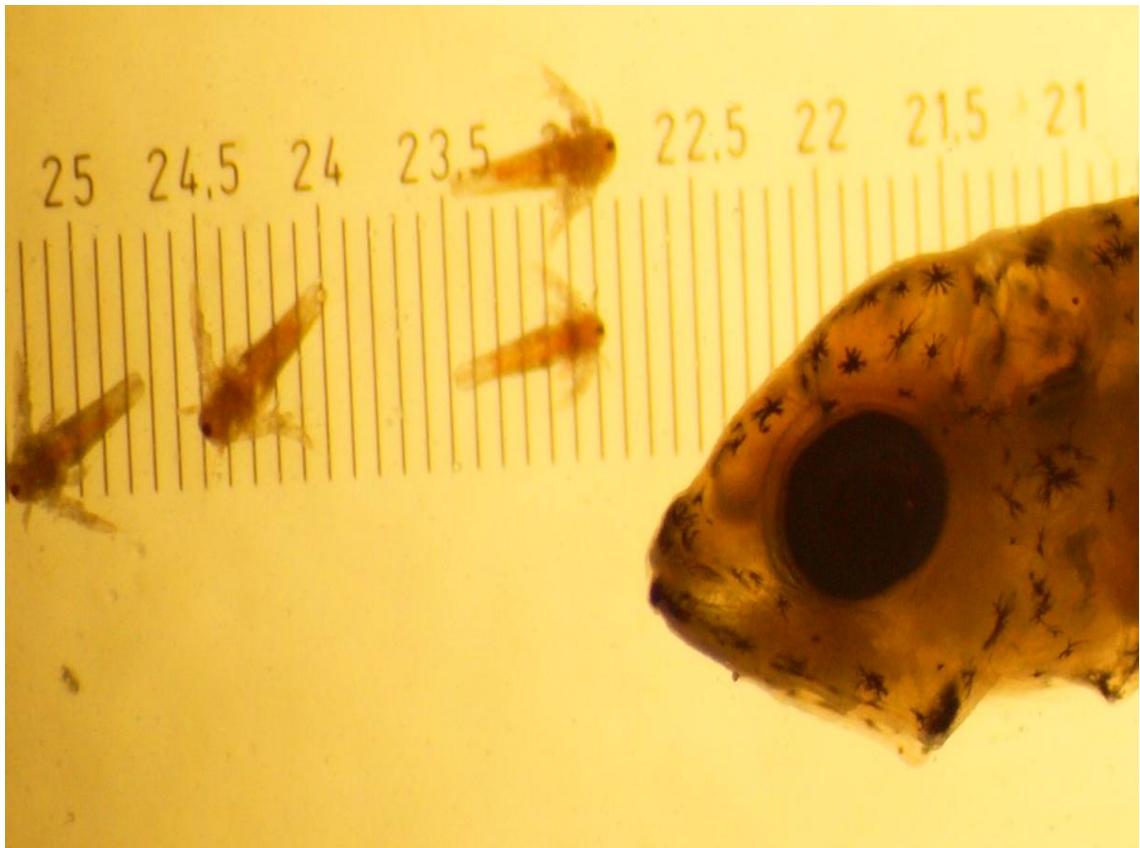


**Obr. 14** Nauplia artemie původem z Altaje (měřítko v mm)



**Obr. 15** Nauplia artémie původem z Tumeně

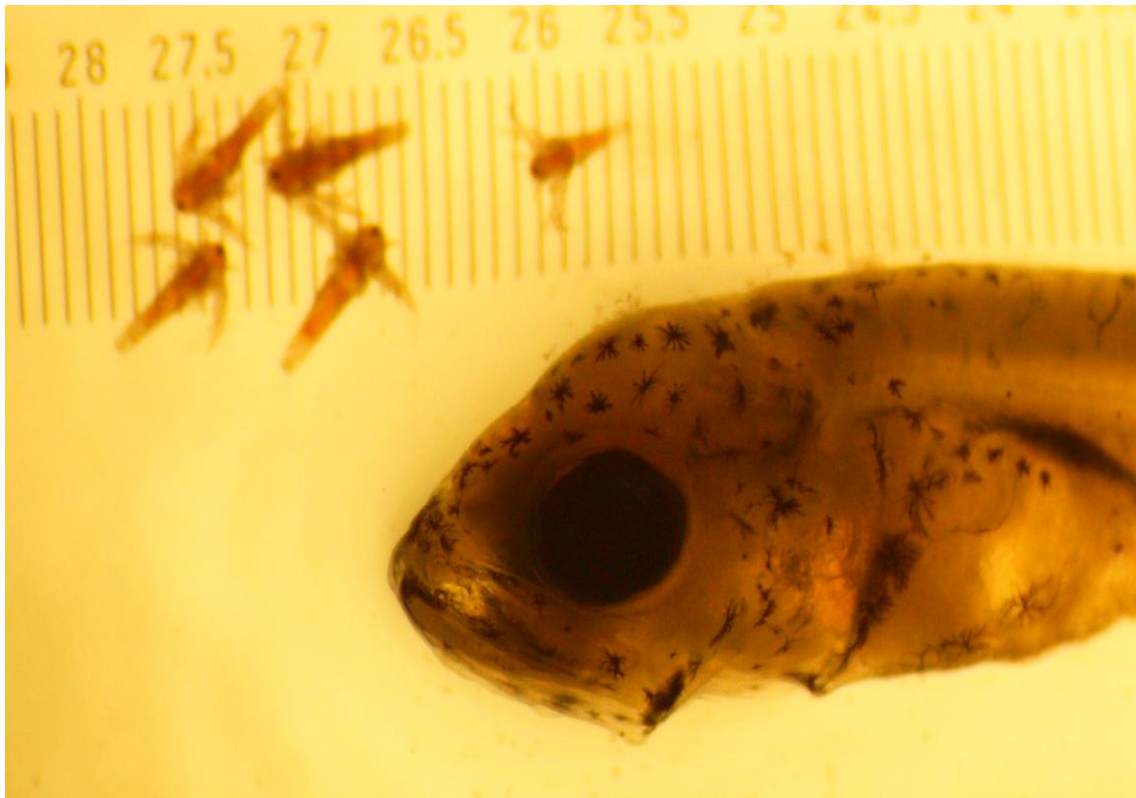




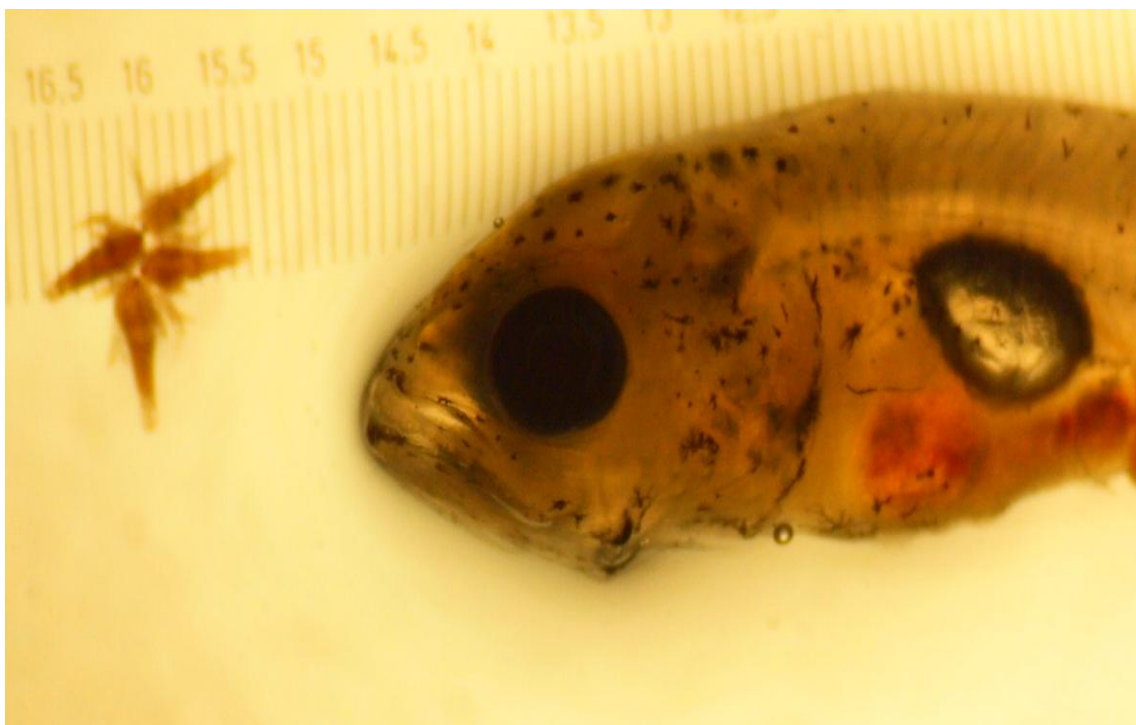
**Obr. 14** Detail hlavy candáta (14 dph) a obohacená nauplia artémie 18 (n-3) + vit. C



**Obr. 16** Detail hlavy candáta (19 dph) ve srovnání s obohacenou artémií - SELCO



**Obr. 17** Detail hlavy candáta (14 dph) a poměrně velkých jedinců neobohacené *Artemia franciscana*



**Obr. 18** Hlava candáta (19 dph) a artemie obohacená 18 (n-3)

## 9. ABSTRAKT

Cílem pokusu bylo ověřit vhodnost a účinnost obohacování nauplií žábřonožek v odkrmu plůdku candáta. Obohacování různými přípravky probíhalo ve 3 variantách: 1. SELCO, 2. 18 (n-3) (kyselina  $\alpha$ -linolenová) a 3. 18 (n-3) + vitamín C po dobu 24 hodin. Původním záměrem bylo zahájit krmení plůdku několika variantami různým způsobem obohacených metanauplií artémie. Vzhledem k tomu, že použitý druh artémií (*Artemia franciscana*) vykazoval po 1 denním obohacování nadměrnou velikost (v porovnání s velikostí ústního otvoru plůdku), což znemožňovalo příjem takovéto potravy. Proto bylo přistoupeno k modifikaci původního postupu. Všem skupinám plůdku byla nejprve zkrmována neobohacená nauplia nejprve v dávce 100 ml (4. - 8. den po vylíhnutí - dph), potom v dávce 50 ml na nádrž (9. dph 25.4.). Teprve po dosažení vhodné velikosti a schopnosti přijímat nauplia větších rozměrů bylo ve druhé části pokusu přistoupeno k rozrůznění výživy (použití různého způsobu obohacení a kontrolní skupina byla krmena neobohacenou artémií). První fáze odkrmu trvala 22 dnů (5.4. - 26.4.), ryby musely být přeloveny a nasazeny do pokusu s obohacenou artémií. Druhá část odchovu, lišící se použitím různým způsobem obohacených metanauplií trvala 8 dnů (27.4. - 4.5.). Na závěr druhé části odkrmu (od 1.5.) bylo přistoupeno ke co-feedingu, tzn. kombinovanému podávání živé potravy a startérového krmiva. 5.5. byl experiment ukončen. Nejvyššího přežití bylo dosaženo u ryb krměných artémiemi obohacenými přípravkem SELCO (28,67 %), u ryb krměných naupliemi obohacenými kyselinou  $\alpha$ -linolenovou (27,88 %), resp. obohacených vitamínem C a kyselinou  $\alpha$ -linolenovou (19,00 %). Nejnižší přežití bylo zaznamenáno v kontrolní skupině (14,66 %). Nejvyšší průměrné kusové hmotnosti plůdku na konci pokusu bylo dosaženo u skupiny krměné artémií obohacenou o vitamín C a kyselinu  $\alpha$ -linolenovou  $306,16 \pm 64,27$  mg, nejnižší u kontroly  $216,9 \pm 39,96$  mg. Největší dosažená průměrná celková délka plůdku (*l.t.*) byla naměřena u skupiny SELCO  $30,13 \pm 2,47$  mm, nejnižší u kontroly  $27,37 \pm 1,32$  mm. Nejvyšší zastoupení jedinců přijímajících startérovou krmnou směs bylo zaznamenáno u skupiny krměné metanauplií obohacenými o vitamín C (8 %), zároveň ale byla zjištěna i nejvyšší míra kanibalismu (6 %).

Klíčová slova: nauplia, metanauplia, RAS, bioenkapsulace, larvální, juvenilní, SELCO



## 10. ABSTRACT

The aim of our experiment was proving the suitability and effectivity of artemia nauplii enrichment in pikeperch fry rearing. 24 hour enrichment took place in 3 variants: 1. SELCO, 2. 18 (n-3) ( $\alpha$ -linolenic acid) and 3. 18 (n-3) + vitamin C. Original intention was initializing fry feeding with different types of enriched artemia metanauplii. Due to excessive size of artemia after 1 day enrichment (*Artemia franciscana*) (in comparison with size of fry oral cavity) the intake of such food was not possible, thus the methods had to be modified. From the given reason, fish were initially fed with unenriched nauplii ; firstly with dose 100 ml (4 - 8 day post hatch - dph) after that with dose 50 ml per tank (9. dph 25.4.). As soon as fry reached suitable size and was able to intake bigger size of nauplii, was in the second part feeding differentiated (use of different types of enrichment and control group was fed with unenriched artemia). First part of experiment lasted 22 days (5.4. - 26.4.), fish must have been netted and again placed in tanks for experiment with enriched artemia. Second part of rearing varied in use of differently enriched metanauplii and lasted 8 days (27.4. - 4.5.). At the end of second part of feeding (from 1.5.) was involved co-feeding, which means combined feeding (living food and starter feed). 5.5. was experiment terminated. The highest survival was reached in group fed with artemia enriched in commercial prepartate SELCO (28,67 %), second highest survival was reached in group fed metanauplii enriched in  $\alpha$ -linolenic acid (27,88 %) and third highest survival was reached in group fed with  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin C enriched metanauplii (19,00 %). The highest individual fry weight at the end of experiment was reached in group fed with artemia enriched in  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin C :  $306,16 \pm 64,27$  mg, the lowest individual weight was reached in control group :  $216,9 \pm 39,96$  mg. The highest average total length (*l.t.*) was measured in SELCO group  $30,13 \pm 2,47$  mm, the lowest total length reached fish in control group  $27,37 \pm 1,32$  mm. In group fed with artemia enriched in vitamin C was noticed the highest percentage of starter feed intake (8 %), but simultaneously in the same group was reached the highest rate of cannibalism (6 %).

Key words: nauplii, metanauplii, RAS, bioencapsulation, larval, juvenile, SELCO