

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Ústav akvakultury

Diplomová práce

**Odchov plůdku piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v umělých podmínkách**

**Autor:** Pavel Franta

**Vedoucí diplomové práce:** RNDr. Bořek Drozd, Ph.D.

**Konzultant diplomové práce:** Ing. Radek Gebauer

**Studijní program a obor:** B4103 Zootechnika, Rybnářství

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** 3.

České Budějovice, 2017

## **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.

V Českých Budějovicích 5. května 2017

Podpis: .....

## **Poděkování**

Je mou milou povinností poděkovat všem, kteří mi jakýmkoli způsobem pomohli s touto diplomovou prací. Především bych chtěl poděkovat svému vedoucímu diplomové práce RNDr. Bořku Drozdovi, Ph.D. za trpělivost, čas, cenné rady a připomínky, které mi věnoval při zpracování této práce. Dále děkuji svému konzultantovi Ing. Radku Gebauerovi za pomoc a praktické rady během pokusu. Velký dík patří Ing. Zdeňku Brožovi za pomoc při sestavování experimentálního systému a Ing. Adéle Stupkové, Ph.D. za pomoc při zpracovávání vzorků. Za vyhotovení analýz základních biogenních prvků a spalného tepla děkuji Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR v. v. i.. Své rodině děkuji za podporu a trpělivost, kterou mi věnovala po celou dobu studia.

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Pavel FRANTA**  
Osobní číslo: **V14N002P**  
Studijní program: **N4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Odchov plůdku piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v umělých podmínkách**  
Zadávající katedra: **Ústav akvakultury**

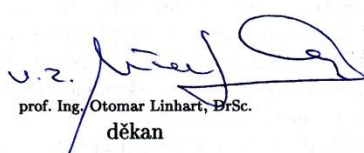
### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Piskoř pruhovaný, *Misgurnus fossilis* (L.), cílový druh diplomové práce, patřil v minulosti mezi velice hojné druhy našich ryb, ale pravděpodobně v souvislosti se zhoršující se kvalitou vody a přímou degradací vhodných lokalit (především vysoušení) takřka zcela zmizel. V současné době se jedná o velice ohrožený druh nejen české, ale i evropské ichtyofauny (druh ze seznamu Přílohy II. v rámci sítě NATURA 2000). Jednou z možností, jak zjednat efektivní nápravu současného stavu a posílit početní stav populací tohoto druhu na území nejen ČR, je vedle rekonstrukce vhodných habitatů, také zpracování metody řízené reprodukce a produkce násadového materiálu (plůdku) pro volné vody.

Cílem diplomové práce je tak shrnutí a porovnání dosud známých informací z produkce plůdku ryb v přírodě a v umělých podmínkách (především odchov raných stádií, přechod na umělou potravu, problematika co-feeding, dále obecně zpracovaná problematika potravy u cílového druhu/čeledi) se zřetelem na piskoře pruhovaného a příbuzných druhů (čeleď sekavcovití), s vlastními experimentálními daty, které budou získány v rámci řešení DP. Experimentální část diplomové práce bude probíhat v experimentálním recirkulačním systému (akvarijní místnosti) na Ústavu Akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích. Student bude mít za úkol ověřit možnost využití suchých startérových krmných směsí při odchovu plůdku piskoře pruhovaného s cílem nalezení optimálního postupu pro převod larev piskoře z přirozené na umělou potravu. Cílem práce bude tedy otestovat vliv termínu převodu (po vykulení) z přirozené potravy (dekapsulovaná vajíčka žábřonožky - *Artemia* sp.) na suchou krmnou (startérovou) směs. Vliv iniciálního stáří (termínu převodu) larev ryb bude testován v kombinaci s délkou co-feeding periody. Testováno bude 5 termínů převodu (10, 16, 22, 28, 34 dní po vykulení) v kombinaci se 2 režimy délky co-feeding periody (3, 6 dní), pozitivní kontrola (krmení pouze dekapulovanými vajíčky žábřonožky), negativní kontrola (krmení pouze suchou krmnou směsí) a hladová zkouška. Zhodnoceno bude během sledované periody přežívání, morfometrické a gravimetrické ukazatele (délka těla a mokrá/suchá hmotnost), podíl jednotlivých makrobiogenních prvků a energetická kompozice těl. Každá experimentální skupina bude testována v triplicacích, ryby budou chovány v nádržích s proměnným objemem vody 5 - 10 - 20 l. Podmínky prostředí a chemismus vody budou pravidelně ve všech nádržích monitorovány. Získané výsledky pak student dále vyhodnotí pomocí počítačového SW (Statistica, Image Analysis, MS Office) a srovná s informacemi z dostupné literatury.

Rozsah grafických prací: **15 - 50 tabulek a grafů**  
Rozsah pracovní zprávy: **40 - 80 stran**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury: **viz příloha**

Vedoucí diplomové práce: **RNDr. Božek Drozd, Ph.D.**  
Ústav akvakultury  
Konzultant diplomové práce: **Ing. Radek Gebauer**  
Datum zadání diplomové práce: **17. prosince 2014**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2015**

  
v. z. **prof. Ing. Otomar Linhart, Dr.Sc.**  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zemědělská 723/II  
389 25 Vodňany (2)

  
**Ing. Jan Mráz, Ph.D.**  
ředitel

dne

# **OBSAH**

<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>9</b>
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Piskoř pruhovaný .....</b>	<b>10</b>
2.1.1 Popis druhu .....	10
2.1.2 Rozšíření druhu.....	11
2.1.3 Habitat.....	11
2.1.4 Potrava .....	12
2.1.5 Přirozená reprodukce .....	13
2.1.6 Umělá reprodukce.....	13
2.1.7 Ochrana druhu.....	14
<b>2.2 Ontogeneze.....</b>	<b>16</b>
2.2.1 Embryonální perioda.....	17
2.2.2 Larvální perioda.....	18
2.2.3 Juvenilní perioda.....	19
2.2.4 Adultní perioda .....	19
2.2.5 Senektivní perioda .....	20
<b>2.3 Raná ontogeneze piskoře .....</b>	<b>20</b>
2.3.1 Embryonální perioda.....	20
2.3.2 Larvální perioda.....	21
<b>2.4 Výživa raných stádií ryb.....</b>	<b>21</b>
2.4.1 Nutriční nároky raných stádií ryb .....	23
2.4.2 Živá potrava .....	29
2.4.3 Mikrodieta.....	34
2.4.4 Co-feeding .....	35
2.4.5 Co-feeding u piskoře: dosavadní zkušenosti .....	36
<b>2.5 Úskalí ve výživě zástupců rodu <i>Misgurnus</i> .....</b>	<b>37</b>
2.5.1 Vývoj trávicího traktu .....	37
2.5.2 Zahájení mixogenní výživy .....	38
2.5.3 Vliv hladovění.....	39
2.5.4 Nároky na výživu.....	39
<b>3. CÍL PRÁCE.....</b>	<b>43</b>

<b>4. MATERIÁL A METODIKA.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Reprodukce piskoře pruhovaného.....</b>	<b>44</b>
4.1.1 Získání a příprava generačních ryb.....	44
4.1.2 Umělý výtěr .....	45
4.1.3 Inkubační systém .....	46
<b>4.2 Experimentální systém.....</b>	<b>46</b>
4.2.1 Průběh experimentu .....	47
4.2.2 Krmení .....	49
<b>4.3 Odběr vzorků.....</b>	<b>52</b>
4.3.1 Vzorky odebrané před zahájením experimentu .....	52
4.3.2 Vzorkování odkrmovaných larev a juvenilů.....	52
4.3.3 Ukončení pokusu .....	53
<b>4.4 Analýza dat .....</b>	<b>53</b>
4.4.1 Stanovení ukazatelů plodnosti .....	53
4.4.2 Stanovení přežívání.....	54
4.4.3 Stanovení morfometrických ukazatelů .....	54
4.4.4 Stanovení gravimetrických ukazatelů.....	56
4.4.5 Stanovení prvkového složení a spalného tepla .....	57
4.4.6 Statistické zhodnocení dat .....	57
<b>5. VÝSLEDKY .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1 Plodnost.....</b>	<b>59</b>
<b>5.2 Vliv načasování zahájení co-feedingu na přežívání larev, juvenilů.....</b>	<b>59</b>
<b>5.3 Vliv délky periody co-feedingu na přežívání larev, juvenilů.....</b>	<b>63</b>
<b>5.4 Vliv načasování zahájení co-feedingu na růst .....</b>	<b>64</b>
5.4.1 Morfometrické parametry .....	65
5.4.2 Gravimetrické parametry .....	72
<b>5.5 Vliv délky periody co-feedingu na růst .....</b>	<b>77</b>
5.5.1 Morfometrické parametry .....	77
5.5.2 Gravimetrické parametry .....	82
<b>5.6 Prvkové složení.....</b>	<b>85</b>
<b>5.7 Spalné teplo.....</b>	<b>89</b>
<b>6. DISKUZE.....</b>	<b>91</b>
<b>7. ZÁVĚR.....</b>	<b>99</b>

<b>8. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>101</b>
<b>9. SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>116</b>
<b>10. ABSTRAKT.....</b>	<b>124</b>
<b>11. ABSTRACT .....</b>	<b>126</b>



# 1. ÚVOD

Areál rozšíření piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) zaujímá značnou část Evropy a částečně zasahuje i do Asie. Bohužel, především následkem nepříznivého managementu krajiny a zhoršující se kvality vody v minulém století, je dnes tento druh v rámci celého svého areálu rozšíření na ústupu. Výjimkou není ani území České republiky, kde se tento druh dříve hojně vyskytoval. V současnosti je piskoř pruhovaný zařazen mezi druhy chráněnými v rámci soustavy NATURA 2000 a má status ohroženého druhu. Přesto je jeho opětovné znovunavrácení do přírody značně komplikované. Velká část vhodných biotopů, kterými jsou nejčastěji říční tůňe a mrtvá ramena řek, v důsledku narušení přirozeného vývoje vodních toků, zmizela. Navíc, zbývající mozaikovitě roztroušené populace piskoře pruhovaného, jsou od sebe navzájem často izolované a nemohou tak efektivně osidlovat zbývající vhodné biotopy.

Obrovský potenciál ve smyslu záchrany tohoto druhu tak spočívá v umělé reprodukci, odchovu v řízených podmínkách a následném vysazování do volných vod. Velký pokrok byl v posledních dvou dekádách učiněn v oblasti umělého výtěru piskoře pruhovaného. Nicméně ucelené informace o efektivním odchovu plůdku tohoto druhu prozatím chybí.

Odchov raných stádií (plůdku) ryb však skýtá mnohá úskalí, jako je například nízká odolnost larev k nedostatku vhodné potravy, slabě vyvinutý trávicí trakt a s tím související nižší účinnost trávení. Proto je odchov plůdku ryb nejčastěji založen na krmení přirozenou (živou) potravou, to však s sebou nese i mnohé nevýhody, z nichž asi nejvýznamnější je časová a ekonomická náročnost. V případě odlovu živé potravy v přírodě pak i riziko zavlečení patogenů do chovu. Z tohoto důvodu se v poslední době začala využívat metoda tzv. co-feedingu, tj. metody pro převod ryb z živé potravy na suchou dietu. Tato metoda našla své uplatnění především u produkčně významných druhů ryb, ale své využití má i při odchovu ohrožených druhů ryb.

Cílem předložené DP je nalézt vhodnou metodu odchovu plůdku piskoře pruhovaného, se zaměřením na určení optimálního způsobu převodu larev z živé potravy na suchou startérovou krmnou směs, v závislosti na termínu převodu a délce trvání periody co-feedingu. Získané znalosti by pak mohly následně posloužit při záchranném chovu piskoře pruhovaného.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Piskoř pruhovaný

#### 2.1.1 Popis druhu

Z taxonomického hlediska je piskoř pruhovaný – *Misgurnus fossilis* (Linnaeus, 1758) zařazen do třídy Actinopterygii – paprskoploutví, řádu Cypriniformes – máloostní a čeledi Cobitidae – sekavcovití.

Jedná se o druh typický především svým zbarvením, díky kterému můžeme piskoře pruhovaného snadno odlišit od ostatních zástupců rodu *Misgurnus*. Úhořovité tělo je směrem k ocasnímu násadci laterálně zploštělé a pokryté drobnými šupinami. Hřbetní strana je zbarvena tmavě. Břišní partie je nažloutlá (Baruš a Oliva, 1995a). Na boční straně těla jsou dále patrné dva tmavé pruhy. První širší pruh se táhne od oka po bázi ocasní ploutve. Druhý znatelně užší pruh začíná u skřelového víčka (*operculum*) a jeho délka může být individuální, avšak přinejmenším dosahuje na úroveň břišních ploutví (Kottelat a Freyhof, 2007). Ústní otvor je vybaven deseti vousky, čtyři z nich jsou umístěny na horní čelisti a další čtyři vousky vystupují z dvoulaločného dolního pysku (Příloha č. 1). Zbylé dva vousky vyrůstají v koutcích ústního otvoru (Baruš a Oliva, 1995a). Piskoř pruhovaný dosahuje maximální délky těla (SL) 27 cm (Kottelat a Freyhof, 2007), celkové délky těla (TL) okolo 30 cm a hmotnosti 150 g (Baruš a Oliva, 1995a; Dubský a kol., 2003). Stejně jako většina zástupců řádu Cypriniformes je i piskoř pruhovaný vybaven požerákovými zuby (*dentes pharyngei*), s 11 – 14 zuby umístěnými v jedné řadě (Baruš a Oliva, 1995a; Šusta, 1997) (viz také Příloha č. 2).

Piskoř pruhovaný také disponuje několika adaptacemi, které mu umožňují přežít i na poměrně extrémních stanovištích, jakými jsou mrtvá ramena a tůň řek. Jednou z nich je schopnost piskoře pruhovaného využívat atmosférický kyslík pomocí střevního dýchání, které ovšem může využívat i při dostatečném nasycení vody kyslíkem (Baruš a Oliva, 1995a; Dubský a kol., 2003). Schopnost polykat atmosférický kyslík popsal ve své knize již Josef Šusta (Šusta, 1997). Nicméně vykulená eleuterembrya touto schopností adaptace nedisponují a proto se u nich vyvinuly vnější keříčkovité žábry (Kottelat a Freyhof, 2007). Další adaptací je schopnost piskoře adsorbovat kyslík pomocí kožního dýchání.

Co se týče chování, jedná se o druh s typicky noční aktivitou a bentickým způsobem života (Baruš a Oliva, 1995a). Často pomalu plave nad bahnitým dnem, ve

kterém ryje a hledá potravu, kterou nachází především pomocí čichu. V zimním období, případně v období sucha, se dospělci zahrabávají do dna a to do hloubky 20 – 30, příležitostně i 70, cm (Kottelat a Freyhof, 2007).

### **2.1.2 Rozšíření druhu**

Areál rozšíření piskoře pruhovaného se rozkládá od řeky Mázy, přes odvodňovací kanály řeky Něvy, až k Ladožskému jezeru. Dále se vyskytuje v řekách povodí Černého moře, především pak v povodí Dunaje (Kostomarová, 1991; Kottelat a Freyhof, 2007). Povodí Dunaje zřejmě sehrálo významnou roli při šíření tohoto druhu po poslední době ledové (16 – 20 000 let). Tuto hypotézu do značné míry podporuje i studie Mendela a kol. (2008), kteří vysvětlují nízkou genetickou diverzitu piskoře pruhovaného právě možným šířením tohoto druhu z jednoho místa. Bohlen a kol. (2007) považují za oblast expanze piskoře pruhovaného povodí Dunaje.

Areál jeho rozšíření také obsahuje povodí řeky Don, Volhy a řeky Ural. Nevyskytuje se však na Krymu a Kavkazu, výjimku tvoří občasné záznamy uváděné z dolního toku řeky Kubaň (Kostomarová, 1991; Kottelat a Freyhof, 2007). Výskyt nebyl zaznamenán ani v povodí Severního ledového oceánu, Anglii, Skandinávii, Finsku a jihoevropských ostrovech (Baruš a Oliva, 1995a; Kottelat a Freyhof, 2007). Kottelat a Freyhof (2007) dále uvádějí jeho zavlečení do drenážních kanálů řeky Rhony ve Francii a nevyklučují ani jeho introdukci do jiných oblastí mimo areál jeho přirozeného výskytu.

### **2.1.3 Habitat**

Piskoř pruhovaný preferuje stojaté, případně mírně tekoucí vody (Dubský a kol., 2003). Avšak tyto biotopy musí splňovat několik podmínek, především hustý vegetační pokryv, bahnitý substrát s vysokým podílem detritu a odumřelé vegetace (Kottelat a Freyhof, 2007; Pekárik a kol., 2008). Těmito podmínkami jsou často charakteristické právě říční tůň a mrtvá ramena řek (Kostomarová, 1991). Kromě těchto primárních biotopů můžeme dnes piskoře pruhovaného nalézt i na sekundárních biotopech, jako jsou odvodňovací kanály, jámy (Pekárik a kol., 2008), anebo v již dřívějších dobách vzniklých rybnících (Baruš a Oliva, 1995a; Šusta, 1997). Všechny věkové kategorie piskoře pruhovaného se vyhýbají otevřenému substrátu bez vegetačního pokryvu. Přesto mezi habitaty různých věkových kategorií existují jisté rozdíly. Především v období léta adultní jedinci preferují úseky s hustou vegetací (např. vodní mor kanadský - *Elodea*

*canadensis*), zatímco juvenilní jedinci dávají přednost rákosové zóně kolem břehové linie, která je charakteristická hrubým detritem a poměrně malou hloubkou vody, která nepřesahuje 10 cm (Meyer a Hinrichs, 2000).

#### 2.1.4 Potrava

Informací o potravních preferencích piskoře pruhovaného je i v dnešní době poměrně poskrovnu. První informace vycházejí z práce Josefa Šusty (1997), který v žaludcích piskořů, a to i u ryb většího věku, našel malé plže a lasturovce (dnes lasturnatky – Ostracoda).

Další informace o potravě piskoře pruhovaného pochází ze studie Drozda a Bláhy (2011), kteří se zabývali potravními nároky larev a juvenilů piskoře pruhovaného. Jako první přirozenou potravu piskoře uvádějí zástupce lasturnatek (Ostracoda), skrytěnek (Arcellinida) a vířníků (Rotifera). Během ontogeneze larvy postupně přecházejí na benticky žijící zástupce perlooček - třída Cladocera (*Simocephalus vetulus* a *Ceriodaphnia reticulata*). Juvenilní piskoři (délka těla větší jak 60 mm) se orientují především na zástupce buchaneček – třída Copepoda. Nicméně po celou dobu (larvální a juvenilní perioda) hrají hlavní roli v potravě lasturnatky, které vždy tvoří nejméně 40 % přijaté potravy (Drozd a Bláha, 2011). To by odpovídalo i pozorování Šusty (1997). Larvy pakomárů (Chironomidae) zaznamenali Drozd a Bláha (2011) v potravě piskoře pruhovaného po dosažení délky těla cca 100 mm. K podobným pozorováním dospěli i Schmidt a Schmidt (2014) při výzkumu piskoře dálnovýchodního v nepůvodním areálu rozšíření (řeka Hudson, New York), kde u jedinců o celkové délce těla větší než 100 mm vyhodnotili jako dominantní složku potravy právě larvy pakomárů, které tvořily 56 % z celkově přijaté potravy. Další složku potravy tvořily larvy muchniček (Simuliidae) a vodní plži (Gastropoda). Ovšem autoři také poukazují na odlišnou potravní preferenci jedinců z různých částí řeky Hudson.

Avšak oproti dosavadním poznatkům u piskoře pruhovaného, Urquhart a Koetsier (2014a) objevili v žaludcích piskořů dálnovýchodních mimo dominantních larev pakomárů i zbytky rostlin, které tvořily 14,6 % z přijaté potravy. Nicméně schopnost piskoře dálnovýchodního efektivně trávit rostlinnou složku potravy není zcela známa. Navíc dalších 7 % přijaté potravy tvořil detrit, který společně se zbytky rostlin není zřejmě piskořem přijímán cíleně a obě složky tvoří pouze balast, který ryba přijímá při vyhlédávání potravy v substrátu. (Urquhart a Koetsier 2014a).

### 2.1.5 Přirozená reprodukce

V přirozeném prostředí se piskoř pruhovaný vytírá od dubna do června (Baruš a Oliva, 1995a; Šusta, 1997; Dubský a kol., 2003; Kottelat a Freyhof, 2007). Avšak údaje o teplotě vody při přirozeném výtěru piskoře se v rámci literatury do jisté míry liší 13 až 14 °C (Kryzhanovsky, 1949), 11 až 15 °C (Dubský a kol., 2003); 19 °C (Kottelat a Freyhof, 2007), vzhledem k odlišným teplotním podmínkám v různých geografických oblastech výskytu piskoře pruhovaného či rozdílného metodického postupu a přístrojového vybavení autorů dat.

Samci, oproti samicím, disponují delším druhým paprskem prsních ploutví (Kottelat a Freyhof, 2007), které mají při pohledu shora trojúhelníkový tvar. Dále samci mají delší břišní ploutve, které dosahují často až k začátku análního otvoru. Naproti tomu samice mají zaokrouhlený (vejčitý) tvar prsních ploutví (Baruš a Oliva, 1995a), na kterých je patrná tzv. *lamina circularis* (Kottelat a Freyhof, 2007). Velmi specifickým znakem samců jsou vertikální oranžově zbarvené kožní výrůstky (kýly) tvaru „klobásky“ na bocích těla v úrovni análního otvoru, zvětšené v období výtěru (Kostomarova, 1991; Kottelat a Freyhof, 2007). Pohlavní dospělosti dosahuje piskoř pruhovaný ve věku 2 - 3 let (Baruš a Oliva, 1995a; Kottelat a Freyhof, 2007), nicméně samčí pohlavní znaky jsou často patrné již na konci prvního roku života (Drozd, 2011).

Při výtěru samci následují samice do husté vegetace a ovíjí se kolem jejich těla v oblasti za hřbetní ploutví a vytváří kolem nich tzv. prstenec. Tím dochází ke stimulaci samic, ty vypouští jikry, které jsou současně samcem oplozeny. Stejně jako u ostatních fytofilních druhů ryb, i u piskoře pruhovaného jsou jikry lepkavé a ulpívají na vodní vegetaci (Dubský a kol., 2003; Kottelat a Freyhof, 2007). Jikry dosahují velikost zhruba 1,42 mm a váží zhruba 0,88 mg (Drozd, 2011). Absolutní plodnost samic piskoře pruhovaného se pohybuje mezi 5 000 – 35 000 (Dubský a kol., 2003) a 100 000 až 150 000 (Baruš a Oliva, 1995a; Šusta, 1997) jikrami.

### 2.1.6 Umělá reprodukce

K hormonální stimulaci obou pohlaví během umělého výtěru piskoře pruhovaného se nejčastěji používá ve vodném roztoku rozpuštěná v acetonu vysušená kapří hypofýza, která obsahuje hormon gonadotropin. Tato suspenze se aplikuje nejčastěji intramuskulárně do hřbetní části a to v celkové dávce 5 mg · kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti, pro samce v jedné, pro samice ve dvou dílčích dávkách (s intervalem 12 hodin). Interval latence se při 18 °C pohybuje od 16 do 17,5 hodin (Kouřil a kol., 1996; Drozd, 2011).

O použití jiných hormonálních přípravků u piskoře pruhovaného je v literatuře jen velmi málo informací. Výjimku tvoří bakalářská práce Žáka (2015), který uvádí nejlepší výsledky při použití kapří hypofýzy, a dále přípravků obsahujících syntetický analog GnRH s přidavkem dopaminího inhibitoru (Ovaprimu, Ovopelu, případně Dagingu). Naopak ve své práci nedoporučuje použití hormonálních přípravků bez dopaminího inhibitoru.

Problematikou umělého výtěru se také zabývali Wang a kol. (2009b) u piskoře dálnovýchodního. Ve své studii dosáhli nejlepších výsledků, a to i ve srovnání s kapří hypofýzou, současnou aplikací GnRHa s dopaminerním inhibitorem - domperidonem (DOM). Jako nejlepší se jeví dávky 20  $\mu\text{g}$  + 10 mg a 40  $\mu\text{g}$  + 20 mg (GnRHa + DOM). Navíc, stejně jako u piskoře pruhovaného, není ani u tohoto druhu autory studie doporučováno využívat hormonálních přípravků bez dopaminího inhibitoru.

Výtěr piskoře probíhá pomocí masáže břišní partie. Absolutní pracovní plodnost (množství vytřených jiker) se u piskoře pruhovaného pohybuje v rozmezí od 5800 do 7900 jiker na samici a relativní pracovní plodnost dosahuje hodnot 88 až 135 tisíc jiker  $\cdot \text{kg}^{-1}$  živé hmotnosti samice (Drozd, 2011). Stejně jako u samic, i umělý výtěr samců probíhá pomocí masáže břišní partie. Spermie piskoře pruhovaného dosahují celkové délky 40 – 60  $\mu\text{m}$  a mají hlavičku bez akrozomu. Tento znak je pro zástupce kostnatých ryb (Teleostei) typický (Kostomarová, 1991). Avšak pokud se jedná o motilitu spermií (dobu, po kterou se spermie aktivně pohybují), je piskoř v rámci kostnatých ryb unikátem. Celková délka motility spermií je více jak 30 minut, tzn., dosahuje mnohonásobku průměrné motility spermií ostatních druhů kostnatých ryb. Samozřejmě během tohoto intervalu klesá procento motilních spermií a to na cca 50 % po 10 minutách od jejich aktivace (Alavi a kol., 2013).

### **2.1.7 Ochrana druhu**

V rámci celého areálu rozšíření piskoře pruhovaného dochází k jeho postupnému ubývání. Výsledkem je jeho vymizení z mnoha vodních ploch. Příčinou tohoto procesu je především nepříznivý management krajiny v minulém století, kdy docházelo k narovnávání vodních toků a vysoušení mokřadů za účelem ochrany před povodněmi. Došlo tak k narušení přirozeného vývoje řeky, tvorby meandrů a s tím spojeným utvářením slepých a mrtvých ramen, které tvoří primární biotop výskytu piskoře pruhovaného. V důsledku přirozené sukcese tak postupně zanikají i zbylá mrtvá ramena (Freyhof, 2011). Tyto události vedly k tomu, že piskoř pruhovaný byl dle Směrnice

Rady č. 92/43/EHS z 21. května 1992, O ochraně přírodních stanovišť, volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin, zařazen mezi tzv. Naturové druhy (podle systému NATURA 2000). Dále byl v České republice dle zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny a na něj navazující prováděcí vyhlášky MŽP České republiky č. 395/1992 Sb., označen jako ohrožený druh. V neposlední řadě má piskoř pruhovaný v rámci Červeného seznamu ryb a mihulí České republiky statut ohroženého druhu (Lusk a kol., 2011).

Potencionálně významnou hrozbou pro piskoře pruhovaného mohou být introdukované nepůvodní druhy ryb, a to především druhy z rodu *Misgurnus* a *Paramisgurnus*, které jsou schopné obývat stejný (mnohdy extrémní) biotop jako piskoř pruhovaný. Velký význam lze přikládat hlavně piskoři dálnovýchodnímu - *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor, 1842), jehož výskyt byl v rámci Evropy potvrzen v Německu (Freyhof a Korte, 2005), Španělsku (Franch a kol., 2008) a v Nizozemsku (Kessel a kol., 2013). Navíc z nálezů v Německu a Španělsku je vzhledem k věkové skladbě patrné, že se jedná o reprodukce schopné populace (Freyhof a Korte, 2005; Franch a kol., 2008). Stejně jako ohrožený piskoř pruhovaný, i piskoř dálnovýchodní je schopný přijímat a k dýchání využívat atmosférický kyslík, který zpracovává pomocí střevního dýchání v zadním oddíle střeva (Zhang a kol., 2014). Vlastnostmi, které piskoře dálnovýchodního předurčují jako invazivní druh, se blíže zabývali Koetsier a Urquhart (2012) a Urquhart a Koetsie (2014b). Výsledkem bylo zjištění, že tento druh dokáže přežít nejenom teploty pod bodem mrazu ( $LT_{50} = -1,8\text{ °C}$ ), ale také přímé zamrznutí v ledu (Urquhart a Koetsie, 2014b). V případě vyschnutí lokality je tento druh schopný přežít déle jak 80 dní při vlhkosti substrátu menší než 3 % (Koetsler a Urquhart, 2012). Podobnými schopnostmi disponuje i piskoř pruhovaný, ale jejich přesná specifikace v odborné literatuře chybí.

Mimo piskoře dálnovýchodního je často do Německa dovážen jako tzv. ornamentální ryba (druh pro akvarijní využití) sekavec tajvanský (*Paramisgurnus dabryanus* Sauvage, 1878) (Freyhof a Korte, 2005). Nelze tedy vyloučit jeho případný únik do volné přírody, nebo dokonce již existující populaci na území Evropy (Kottelat a Freyhof, 2007). Právě tento scénář byl v nedávné době popsán u posledního druhu z rodu *Misgurnus*, se kterým se lze potencionálně v Evropě setkat, a sice u piskoře čínského (*Misgurnus mizolepis* Günther, 1888). Tento druh byl nalezen v malém jezírku v Sussexu (Anglie). Opět se jednalo o reprodukce schopnou populaci. V tomto případě byla však populace krátce po jejím objevení eradikována (Zięba a kol., 2010).

## 2.2 Ontogeneze

V klasifikaci ontogeneze ryb existují dva odlišné přístupy. Obecně však platí, že ontogeneze ryb je vývoj daného jedince v prostoru a čase, který je rozdělen do pěti period – embryonální, larvální, juvenilní, adultní a senektivní. Tyto periody jsou pak dále děleny na hierarchicky nižší ontogenetické intervaly, jako jsou fáze, které lze také dále dělit na tzv. kroky (Balon, 1985). Výše uvedené ontogenetické intervaly od sebe oddělují kvalitativní změny tzv. mezní ontogenetické body (Peňáz, 2000). Právě na způsob odlišení těchto period od sebe panují odlišné názory.

Historicky první koncept ontogeneze popisuje ontogenezi jako kontinuální vývoj, ve kterém se jednotlivé morfologické změny do jisté míry prolínají. Vývojová stádia ryb se mění a přecházejí do dalších period postupně. Proto je tato teorie označována jako tzv. kontinuální ontogeneze, přičemž rychlost tohoto procesu není konstantní. Výrazné morfologické změny organismus prodělává během embryonální a larvální periody, naopak v dospělosti se tento proces prakticky zastavuje (Fuiman a Higgs, 1997, Kamlerová, 1992). Druhým, historicky mladším, modelem je saltativní/saltační teorie. Podle této teorie jsou jednotlivé periody od sebe odděleny tzv. prahy, tj. kvalitativními změnami, které jsou výraznější mezi periodami a méně výrazné mezi hierarchicky nižšími intervaly v ontogenezi ryb, jako jsou fáze a kroky. Tyto kvalitativní změny se v rámci ontogeneze dějí rychle tzv. salty (skoky) a navzájem se neprolínají (Balon, 1985).

Zavádějící může být i otázka, kdy vlastně ontogeneze začíná. Obecně se za počátek ontogeneze považuje zcela správně oplození jikry, či vznik zygoty (splynutí samčího a samičího prvojádra). Avšak oplození není náhlý jev, ale postupný proces, který může v závislosti na taxonomickém zařazení a abiotických podmínkách trvat v řádu hodin - například u lososovitých ryb oplození jikry trvá 20 a více hodin. Naštěstí u většiny ostatních ryb jde o proces trvající mnohem kratší dobu (Balon, 1985). Další rozpory panují v načasování zahájení larvální periody. Podle prvního historicky staršího názoru začíná přechodem na mixogenní výživu, tj. okamžikem příjmu prvních vnějších potravních partikulí za současného trávení zbytků žloutkového vaku. Tato teorie je založená především na morfologických změnách. Podle druhého historicky mladšího názoru je larvální perioda zahájena vykulením jedince z jikry. V této teorii je kladen důraz především na ekologické a etologické aspekty ve vývoji organismu (shrnutí v práci Peňáz, 2000). Navíc Balon (1986) ve své práci uvádí dokonce možnost přímého



vývoje z embrya na juvenila. To, zda u druhu proběhne larvální perioda, je závislé na způsobu výživy během rané ontogeneze. Například vyšší zásoba endogenní výživy (tedy žloutkového váčku) u embryí některých druhů ryb umožňuje přímý vývoj a dosažení konečného fenotypu bez přítomnosti stádia larvy. Výhodou je i větší velikost jedince při přechodu na exogenní výživu (využití čistě vnější potravy) a tedy i větší šance na přežití (Balon, 1986). Nicméně obě varianty vývoje mají své výhody a nevýhody, jejichž konečná účelnost je dána až environmentálními podmínkami dané oblasti výskytu daného druhu ryby.

### **2.2.1 Embryonální perioda**

Embryonální perioda začíná oplozením jikry a vznikem zygoty. Přechodem na exogenní, případně mixogenní, výživu končí, popř. může končit již vykulením z jikry. Tato perioda zahrnuje fáze rýhování jikry, podle historicky starší teorie také vykulení eleuterembrya (= volné embryo) bez schopnosti přijímat exogenní potravu. A právě přechodem na exogenní výživu embryonální perioda končí (Peňáz, 2000).

Po průniku spermie přes mikropyle do jikry dochází k několika změnám. Už několik minut po oplození se odděluje sekundární pólové tělísko (Verma, 1971). Dále v důsledku kortikální reakce vzniká periviteliní prostor a jikra začíná bobtnat. V neposlední řadě se vytváří blastodisk na animálním pólu. Všechny tyto změny jsou zahrnuty ve stádiu zygoty. Následuje rýhování blastodisku, při kterém se exponenciálně zvyšuje počet buněk, tzv. blastomer (Kimmel a kol., 1995). Na počátku rýhování jsou blastomery odděleny pouze částečně, teprve ve stádiu 16 buněk dojde k úplnému oddělení 4 centrálně umístěných buněk. Během rýhování se velikost buněk stále zmenšuje, z důvodu vyloučení růstové fáze z buněčného cyklu (Kimmel a kol., 1995). V důsledku toho se blastomery stále zmenšují. Ve chvíli, kdy je už nelze rozlišit, dosahuje embryo fáze moruly (Dubský a kol., 2003). Následuje vznik syncytiální vrstvy (periblastu), nad níž na konci fáze rýhování vzniká blastocel (Verma, 1971) a embryo tak přechází do fáze blastuly (Dubský a kol., 2003). Na konci této fáze se výška blastodisku snižuje a ten začíná přerůstat přes žloutek. Tomu se říká epibolie. Když epibola přeroste 50 % žloutku, nastává fáze gastruly, během níž se utváří zárodečný prstenec, embryonální štítek a neurální lišta určující polohu embrya (Kimmel a kol., 1995).

U většiny druhů ryb je endogenní výživa reprezentována žloutkovým váčkem jako jediným zdrojem nutrientů (Balon, 1968). V důsledku jeho využívání k vývoji

(zahrnujícím vedle změny ontogenetického stádia i růst a bazální metabolismus) se postupně snižuje absolutní i relativní obsah proteinů, lipidů a glycidů v těle embrya. Chronologicky s tím vzrůstá absolutní i relativní obsah vody a proto také postupně stoupá hmotnost embrya, ale hmotnost sušiny naopak klesá (Baruš a Oliva, 1995b).

### **2.2.2 Larvální perioda**

V započetí larvální periody panují jisté nesrovnalosti (viz kapitola 1.2 Ontogeneze). V této práci budeme za začátek larvální periody považovat, jak uvádí Peňáz (2000), zahájení schopnosti přijímat a trávit exogenní výživu, tj. přechod na mixogenní výživu. Překvapivě se však schopnost přijímat potravu může u larev časově lišit od schopnosti potravu trávit (viz kapitola 1.5.1. Vývoj trávicího traktu). V počátcích larvální periody dochází u většiny sladkovodních ryb k využívání jak exogenní výživy, tak zbylého žloutkového váčku (endogenní výživy). Tuto přechodovou etapu nazýváme obdobím mixogenní výživy (Kamlerová, 1992).

Počátek larvální periody je z hlediska intenzivní produkce plůdku velmi kritický. Larvy jsou citlivé v rámci celého ontogenetického vývoje na nedostatek potravy (Peňáz, 2000). Tento negativní faktor ještě prohlubuje skutečnost, že larvy jsou omezeny i velikostí potravních partikulí, které jsou schopné přijímat (Balon, 1968) a to i přesto, že mohou ještě asimilovat zbytky žloutkového váčku (Baruš a Oliva, 1995b). Avšak na rozdíl od embryonální periody se larvy vyznačují aktivním způsobem života a vyhledáváním potravy, které započalo již na konci embryonální periody (Kimmel a kol., 1995). S tím jsou spjaty i vyšší nároky na výživu. Kromě citlivosti na nedostatek potravy jsou larvy v rámci celé ontogeneze nejnáročnějším stádiem na dostatek kyslíku rozpuštěného ve vodě (Baruš a Oliva, 1995b). Avšak rezistence vůči environmentálním faktorům se postupně s růstem larev zvyšuje (Peňáz, 2000).

Na rozdíl od embryonální periody se zvyšuje syntéza mastných kyselin, obsah lipidů, kalorická hodnota i celkový obsah sušiny, v kontrastu s klesajícím obsahem vody, bílkovin a minerálních látek v těle larvy (Baruš a Oliva, 1995b).

Larvální perioda končí ve chvíli, kdy jsou všechny embryonální a larvální orgány nahrazeny za definitivní orgány, a když tělo jedinců dosahuje proporčně stejného vzhledu jako tělo adultních jedinců (Peňáz, 2000).

### 2.2.3 Juvenilní perioda

Ukončením metamorfózy vstupují jedinci z larvální periody do juvenilní. Juvenilové si již nesou vzhled adultních jedinců. Mají plně vyvinutý šupinový pokryv těla, definitivní počet (alespoň částečně segmentovaných) ploutevnických paprsků či konečný počet vousků charakteristický pro adultního jedince.

Juvenilní perioda je charakteristická intenzivním růstem orgánů i celého organismu. S tím je spojena vzrůstající odolnost juvenilia vůči nepříznivým vlivům okolního prostředí. Dochází ke zvyšování obsahu lipidů, proteinů a glycidů. Kalorická hodnota tkání se postupně zvyšuje oproti minerálním látkám, jejichž obsah v těle naopak klesá. Juvenilní perioda je ukončena dosažením pohlavní dospělosti, nebo-li též trofoplazmatickým růstem oocytů u samic a započítím spermiogeneze u samců (Peňáz, 2000).

Larvy většiny ryb vyskytujících se na území České republiky preferují jako potravu během larvální periody zooplankton, protože je v daném prostředí nejdostupnější potravou (Adámek a kol., 2010). Avšak s nástupem juvenilní periody často dochází ke změně habitatu, potravy a s tím i souvisejícího chování (Peňáz, 2000). Jedním z příkladů je vývoj mozku u plotice obecné - *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), která má výrazně vyvinuté optické tectum, ale hůře diferenciovaný mozkový kmen. Tato skutečnost odráží důležitost zrakového smyslu během larválního planktonofágního způsobu života. S přechodem na bentickou potravu dochází k vývoji ostatních částí mozku a optické tectum se už výrazně nediferencuje (Brandstaetter a Kotrschal, 1989). Dále může docházet při přechodu z planktonofágní na piscivorní výživu ke změnám tvaru čelistí, těla, či polohy oka (Johansson a kol., 2006).

### 2.2.4 Adultní perioda

Jedná se o nejdelší periodu v rámci života daného organismu, vyznačuje se reprodukční schopností a naopak sníženou rychlostí růstu. V samotném období rozmnožování může docházet ke změně zbarvení a chování dospělých ryb. Podobně, jako při přechodu z larvální do juvenilní periody, i dosažení adultní periody může být doprovázeno přechodem na odlišný druh potravy (Peňáz, 2000). Určitou zajímavostí u zástupců máloostných ryb (Cypriniformes) je také ontogenetický vývoj požerákových zubů, který probíhá především v larvální a juvenilní periodě. Teprve v adultní periodě jsou požerákové zuby kompletně vyvinuty (Nakajima, 1984).

## 2.2.5 Senektivní perioda

Poslední periodou ontogeneze, která však často nemusí v přírodě nastat, je senektivní perioda. V rámci vědecké literatury se zřejmě jedná o jednu z nejméně prozkoumaných period, neboť údaje o jejím nástupu u jednotlivých polycyklicky se rozmnožujících druhů většinou chybí. Nástup senektivní periody charakterizuje snížení reprodukční schopnosti, respektive pokles plodnosti, v důsledku snížení kvality pohlavních produktů. Dále probíhá vývoj a dozrávání pohlavních produktů na úkor asimilace somatických tkání. Bohužel tyto projevy mohou být vyvolány i negativními podmínkami okolního prostředí (Peňáz, 2000).

Během senektivní periody se také snižuje schopnost syntetizovat bílkoviny a lipidy. V důsledku toho se také zcela zastavuje růst. Perioda je zakončena smrtí, která u monocyklických druhů nastupuje krátce po první reprodukci (Peňáz, 2000).

## 2.3 Raná ontogeneze piskoře

Ranou ontogenezí piskoře pruhovaného (embryonální a larvální perioda) se podrobněji zabývali a data sumarizovali Kostomarová (1991) a Drozd (2011), proto je především na jejich poznatkách tato kapitola vystavěna. Avšak vzhledem k tomu, že mnohem větší pozornost v oblasti vědecké literatury je věnována piskoři dálnovýchodnímu, bude raná ontogeneze piskoře pruhovaného doplněna i o údaje vztahující se k ontogenezi tohoto příbuzného druhu.

Během raného vývoje jedinec prochází výraznými změnami oproti následujícímu vývoji v pozdější ontogeneze (Kamlerová, 1992). I proto je v této kapitole popsána pouze embryonální a larvální perioda, které byly také předmětem výzkumu této práce.

### 2.3.1 Embryonální perioda

Embryonální periodu u piskoře pruhovaného Kostomarová (1991) rozdělila do 40 stádií při teplotě vody 21,5 °C. První dělení blastomer nastalo už ve stáří 1 hPF (z anglického – *hours post fertilization*, česky – hodiny po oplození) a stádium moruly embryo dosáhlo ve věku 5 hPF, kdy několikavrstevný útvar blastomer vytvořil na vrcholu žloutku útvar (čepičku), tvořený numericky těžko definovatelným počtem blastomer. Následuje stádium rané (6 hPF), střední (7 hPF) a pozdní (8 hPF) blastuly. Dalším stádiem je gastrula, která byla u piskoře popsána ve věku 10 hPF a je spojena s formováním zárodečných listů, při kterém blastoderm přerůstá přes žloutek. K započatí formování (segmentace) embrya dochází ve věku 21 hPF. O 2 hodiny

později se již formují základy očí. Postupně dochází k prodlužování embrya a jeho obrůstání kolem žloutkového vřívku. Také se začíná ve věku 26 hPF utvářet sluchová kapsle (*capsula otica*). Ve věku 31 hPF se diferencuje ocasní oblast. Pigmentace oka je zahájena ještě před kulením a to ve věku 46 hPF. Ke kulení pak dochází mezi 50 až 52 hPF (Kostomarová, 1991). Vykulená eleuterembrya (viz Příloha č. 3) jsou, co se týče pohybu, velmi pasivní, leží pouze na dně s občasným vyplutím k hladině (Gao a kol., 2014a). Objem žloutkového vřívku vykulených eleuterembryí piskořů je  $1,81 \pm 0,18 \text{ mm}^3$  a jejich celková délka těla se pohybuje od 4,23 do 4,67 mm v závislosti na teplotě během inkubační periody (Drozd, 2011). Během prvního dne dochází ke kompletní pigmentaci očí (Gao a kol., 2014a).

Jak už bylo uvedeno v kapitole 1.1.1 (Popis druhu), eleuterembrya piskoře jsou typická svými nitkovitými žábry, k jejichž resorpci u piskoře pruhovaného dochází po 10 až 12 dnech, tj. již během larvální periody (Kottelat a Freyhof, 2007). K formování vnějších žaber u piskoře dálnovýchodního dochází již během 1. dPH (z anglického – *day after hatching*, česky - dny po vylíhnutí), nicméně k jejich resorpci dochází ve věku 5 dPH (Gao a kol., 2014a).

### **2.3.2 Larvální perioda**

Piskoř pruhovaný přechází do larvální periody ve věku 9 dPF (z anglického – *days post fertilization*, česky – dny po oplození) při teplotě 18 °C. V tento okamžik je už žloutkový vřívok z velké části resorbovaný a zbývají pouze 4 – 5 % z původního objemu žloutkového vřívku při vykulení eleuterembryí. K úplné resorpci žloutkového vřívku dochází ve věku 11 dPF (Drozd, 2011). Během této periody dochází k nahrazení dočasných larválních orgánů za definitivní orgány (Peňáz, 2000). K na první pohled viditelným morfologickým změnám patří resorpce ploutevního lemu, kterou u piskoře dálnovýchodního při teplotě 21 – 29 °C popsal Gao a kol. (2014a). Nejdříve resorbují břišní část ploutevního lemu (14 – 17 dPH), následuje přední část hřbetního lemu (17 až 21 dPH). Nicméně ocasní část ploutevního lemu zůstává ve tvaru lopatky až do juvenilní periody a k její resorpci dochází až mezi 23 a 30 dPH (Gao a kol., 2014a).

## **2.4 Výživa raných stádií ryb**

Dostupnost a příjem potravy, schopnost ji trávit a asimilovat živiny jsou klíčové faktory pro přežívání a růst raných ontogenetických stádií ryb. Účinnost trávení potravy larvami je vedle typu potravy také ovlivněna přítomností a stupněm vývoje některých

struktur trávicího traktu, např. žaludku či hepatopankreatu (Govoni a kol., 1986). Z toho důvodu byl úspěšný odchov mnoha druhů kostnatých ryb (sk. Teleostei) závislý na krmení živou potravou. Avšak dostupnost živé potravy, náklady na její kultivaci a získávání, častá zdravotní závadnost (zanášení nákaz do chovu) vedly k pokusům o převod na různé druhy krmných směsí (Baskerville-Bridges a Kling, 2000).

V prvních pokusech raná stádia přijímala krmné směsi dobře, ale po určitém čase došlo k jejich úhynu, i když larvy měly viditelně plný trávicí trakt. Tento jev podpořil hypotézu, že raná stádia ryb nemají dostatek enzymů pro trávení této stravy a je tedy nezbytný příjem exogenních enzymů z živé potravy. Nicméně biochemické studie ukázaly, že většina trávicích enzymů je aktivní už u raných stádií. Pankreatické enzymy jsou u larev detekovány ještě před otevřením ústního otvoru (Cahu a Infante, 2001). Aktivita enzymů před zahájením exogenní výživy byla prokázána například u tlamouna nilského - *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Tengjaroenkul a kol., 2002) nebo u sekavce tajvanského (viz kapitola 1.5.1 Vývoj trávicího traktu). Syntéza pankreatických enzymů není indukována příjmem potravy, ale syntetickými mechanizmy v pankreatu. Teprve až sekrece enzymů je ovlivněna příjmem potravy, respektive příjmem potravy splňujícím nutriční nároky daného druhu ryb (Cahu a Infante, 2001). Avšak toto zřejmě neplatí pro všechny enzymy. Například u morčáka evropského (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) popisují Cahu a Infante (1994) krátkodobě zvýšenou aktivitu enzymu leucin-aminopeptidázy při krmení startérovým krmivem (dále startérem). Tento jev vysvětlují jako ochranu před trávením tkání v důsledku podvýživy, tj. negativního účinku přímého převodu larev na suchou stravu. Naopak aktivita trypsinu a lipázy se u hladovějících larev platýsovice *Paralichthys olivaceus* (Temminck a Schlegel, 1846) prudce snižuje. Tento pokles je však reverzibilní, pokud je larvám během dvou dnů předložena potrava (Bolasina a kol., 2006).

Nicméně trávicí trakt larev se od dospělých jedinců liší, jak nižší aktivitou enzymů, tak jeho strukturou (Govoni a kol., 1986; Kolkovski, 2001). Příkladem je chybějící žaludek u většiny larev ryb (Aragão a kol., 2004; Hamre a kol., 2013). V důsledku toho přijatý protein není vystaven denaturačním podmínkám v žaludku a není ani předtráven pepsinem před vstupem do střeva. Do doby, než je žaludeční trávení larev plně funkční, se trávení opírá o pankreatické enzymy s optimální aktivitou v neutrálním nebo alkalickém pH. Tím se některé proteiny stávají pro larvy nedostupné (Hamre a kol., 2013). Například larvy síhů (r. *Coregonus*) nemají vyvinutý žaludek až do 50 dPH. To

vede k nedostatečnému trávení proteinů. Jako určitá kompenzace může sloužit příjem živé potravy, která je donorem tzv. autolytických enzymů. O trochu lepší situace je u larev ryb, které nemají žaludek, a jejichž larvy disponují vyšší aktivitou pankreatických enzymů než larvy síhů (Lauff a Hofer, 1984).

Proto byly v poslední době navrhovány startéry určené přímo pro rozkrmování rybích larev. Ty na rozdíl od juvenilů vyžadují dobře stravitelné fosfolipidy, vyšší energetickou úroveň krmiva ve formě neutrálních lipidů a směsi fosfolipidů (Cahu a Infante, 2001). Takto navržené krmivo může dokonce i zlepšovat růst a přežívání larev jinak krmených pouze živými nauplii žábřonožky (*Artemia sp.*), jak uvádí např. Ryan a kol. (2007) u paokouna mramorovaného - *Maccullochella peelii* (Mitchell, 1838). V jiném případě může startér plně nahradit krmení žábřonožkou, jak popisují např. Palińska-Żarska a kol. (2014) u larev mníka jednovousého - *Lota lota* (Linnaeus, 1758). Přesto larvy ryb dávají většinou přednost živé potravě a úspěšný odchov larev krmených pouze startérem je spíše vzácností (Conceição a kol., 2010). Proto se při odchovu rybích larev často aplikuje metoda tzv. co-feedingu (viz níže).

## **2.4.1 Nutriční nároky raných stádií ryb**

### **2.4.1.1 Aminokyseliny**

Aminokyseliny jsou důležitým energetickým substrátem, jsou zapojeny do specifických fyziologických funkcí a především jsou stavební složkou pro syntézu proteinů, tzn., že jsou důležité pro růst (Aragão a kol., 2004). A právě požadavky na růst dosahují během larvální periody svého maxima (Rønnestad a kol., 1999; Conceição kol., 2010b). Například larvy keříčkovce jihoafrického – *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) mohou přirůstat rychlostí až 100 % hmotnosti za den (Conceição kol., 1997). Dochází hlavně k růstu svalové hmoty, který je závislý na rapidní syntéze proteinů (Pedersen, 1997; Rønnestad a kol., 1999). Aby bylo dosaženo odpovídající intenzity syntézy proteinů, tedy bylo možné plně využít růstového potenciálu larev, larvy musí mít v potravě dostupné dostatečné množství aminokyselin (Rønnestad a kol., 1999; Holt, 2011). Čím rychleji vzrůstá velikost larev, tím stoupá i jejich odolnost a přežívání (Pedersen, 1997).

Aminokyseliny z hlediska výživy ryb můžeme rozdělit na esenciální a neesenciální. Zatímco esenciální aminokyseliny musí být rybám dodány v potravě (Li a kol., 2009), neesenciální aminokyseliny si ryby dokáží syntetizovat a to buď z  $\alpha$ -keto kyselin, nebo pomocí transaminace z jiných aminokyselin. Přestože aktivita enzymu transaminázy

byla u larev některých druhů prokázána, schopnost larev syntetizovat neesenciální aminokyseliny v dostatečném množství během raného vývoje není zcela objasněna (Holt, 2011). Proto v případě konvenčního rozdělení aminokyselin na esenciální a neesenciální panují v případě výživy larev jisté rozpory (Li a kol., 2009). Podstatné pro růst larev je vyvážené množství odpovídajících volných aminokyselin v buňkách, kde probíhá syntéza proteinů (Saavedra a kol., 2008).

Klíčovým krokem je pak stanovení kvantitativních nároků larev na jednotlivé aminokyseliny umožňující optimální syntézu proteinů. Jednou z možností jak tohoto dosáhnout, je stanovit kompozice esenciálních aminokyselin v samotných larvách nebo jejich přirozené potravě. Při těchto analýzách však musí být zohledněno několik proměnných, jako jsou např. rozdíly v absorpci a katabolismu aminokyselin či průběh samotného ontogenetického vývoje, během něhož se profil aminokyselin v těle ryb mění. Toto pak platí především během larvální periody (Conceição a kol., 2003; Conceição a kol., 2010b). Výraznost těchto změn odpovídá výraznosti metamorfózy, kterou larvy daného druhu prodělávají (Aragão a kol., 2004).

Nejenom množství odpovídajících aminokyselin, ale také jejich kvalitativní složení hraje důležitou roli ve výživě larev (Rønnestad a kol., 1999). Na rozdíl od dospělých ryb, larvální stádia nejsou schopná trávit nebo absorbovat složité proteiny (Conceição a kol., 2010b). Aminokyseliny z potravy získávají především ve formě tzv. volných aminokyselin nebo aminokyselin vázaných v jednoduchých peptidech (Rønnestad a kol., 1999). Příčinou je ještě ne zcela vyvinutý trávicí trakt larválních stádií. Avšak s ontogenezí raných stádií ryb a jejich trávicího traktu se zlepšuje i jejich schopnost trávit složitější peptidy (Conceição a kol., 2010b).

Mimo stavební funkci slouží aminokyseliny během larvální periody i jako hlavní zdroj energie (Holt, 2011). To by mohlo být značně nevýhodné v případě využívání esenciálních aminokyselin k tomuto účelu, neboť musí být larvám dodávány v potravě primárně za účelem růstu, nikoliv však pro splnění energetických nároků. Larvy ryb jsou tak zřejmě schopné účinně kontrolovat katabolismus aminokyselin a jako energetický zdroj přednostně využívají neesenciální aminokyseliny (Conceição a kol., 2003; Conceição a kol., 2010b). Vlastní růst ryb je také energeticky velmi náročný. U dospělých a juvenilních jedinců tvoří energetické nároky na růst přibližně 40 % z energie obsažené v nově vytvořené tkáni. To by znamenalo poměrně vysoké energetické nároky larev, vzhledem k jejich intenzivnímu růstu. Avšak současné vědecké studie ukázaly, že intenzita metabolismu larev není pozitivně korelována



s rapidním růstem pozorovaným v této vývojové periodě. Přesto mechanismy, které jsou zodpovědné za nižší energetické výdaje larev v závislosti na jejich růstu, nejsou doposud zcela objasněny (Pedersen, 1997).

#### 2.4.1.2 Mastné kyseliny

Funkce, které plní mastné kyseliny u larválních stádií, jsou stejné jako u juvenilních nebo adultních jedinců. Jedná se o strukturální komponenty fosfolipidů, které zajišťují správnou fluiditu (tekutost) buněčných membrán. Zde je důležitá především kyselina dokosaheptaenová (DHA). Mastné kyseliny dále slouží jako hlavní zdroj metabolické energie. V neposlední řadě jsou důležitými prekurzory pro některé bioaktivní molekuly, jako jsou například eikosanoidy, které jsou odvozeny z kyseliny arachidonové (ARA) a podílejí se na regulaci celé řady buněčných cest a kaskád (Lovell, 1998; Holt, 2011).

Již složení lipidů ve stravě generačních ryb, především pak nedostatek n-3 vysoce nenasyčených mastných kyselin tzv. HUFA (z anglického – *highly unsaturated fatty acids*), negativně ovlivňuje jejich plodnost, oplozenost i líhivost jiker a kvalitu vykulených eleuterembryí (Rainuzzo a kol., 1997). Kvalitativní a kvantitativní nároky na obsah i kvalitu mastných kyselin jsou jedním z klíčových problémů ve výživě larev mořských ryb. Oproti sladkovodním larvám ryb má přirozená potrava larev mořských ryb vyšší obsah HUFA, EPA (kyselina eikosapentaenová) a DHA (Bell a kol., 2003). Navíc larvy mořských ryb mají velmi často slabě vyvinutý trávicí trakt a jejich malá velikost omezuje jejich odchov na používání nejmenších potravních partikulí (Tocher, 2010). V poslední době proto vzniklo mnoho odborných studií zabývajících se nejen obsahem mastných kyselin ve stravě larev, ale zkoumajících i např. vzájemné poměry jednotlivých mastných kyselin – především DHA, EPA a ARA, které ovlivňují růst, pigmentaci a kompozici fosfolipidů v těle larev (Rainuzzo a kol., 1997; Bell a kol., 2003).

Opačná situace je u larev sladkovodních ryb. Larvy ekonomicky významných sladkovodních druhů ryb většinou nemají problém s příjmem startovacích krmných směsí. Proto existuje jen málo studií zabývajících se nároky těchto larev na esenciální mastné kyseliny (Halver a Hardy, 2002; Tocher, 2010). Navíc sladkovodní ryby jsou schopné transformovat kyselinu  $\alpha$ -linolenovou (18:3 n-3) a kyselinu linolovou (18:2 n-6) na EPA, DHA a ARA (Tocher, 2010; Lovell, 1998). Tato schopnost byla prokázána i u larválních stádií kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) (Radunz-Neto a kol., 1996) nebo larev ostroretky stěhovavé – *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758)

(Ostaszewska a kol., 2005). Avšak u některých sladkovodních druhů ryb mohou být HUFA pro larvální stádia více esenciální než pro juvenilní či dospělé (Tocher, 2010). Například larvy pstruha duhového nejsou schopné transformovat C-18 vícenenasycené mastné kyseliny tzv. PUFA (z anglického – *polyunsaturated fatty acids*) na delší uhlíkaté řetězce. HUFA jim proto musí být dodávány přímo v potravě (Wirth a kol., 1997).

Mimo jiného mastné kyseliny podávané rybám v krmivu ve formě fosfolipidů jsou lépe stravitelné a dostupné larvám ryb než ve formě triacylglycerolu (Conceição a ko., 2010a). U kapra obecného bylo prokázáno, že pro jeho larvy jsou fosfolipidy esenciální během prvních 2 – 3 týdnů zahájení exogenní výživy, na rozdíl od juvenilů nebo adultních jedinců, kteří si je dokáží sami syntetizovat (Geurden a kol., 1995). Dalším úskalím je druh fosfolipidů používaný pro výživu larev ryb. Této problematice se u larev kapra obecného věnovalo několik vědeckých studií. Fosfatidylcholin zvyšují počáteční růst larev kapra obecného a slouží jako prevence před steatózou střeva. Zároveň však indukují u larev vznik lordózy. Naopak fosfatidylinositol může indukovat vznik střevní steatózy, ale zlepšuje růst a přežívání larev kapra obecného. Na základě těchto výsledků autoři poukazují na specifické požadavky larev kapra obecného na obě třídy fosfolipidů. Avšak konkrétní požadavky nejsou doposud známy (Geurden a kol., 1995; Geurden a kol., 1997; Fontagné a kol., 1998; Geurden a kol., 1998).

### **2.4.1.3 Karbohydráty**

Schopnost ryb trávit karbohydráty, tj. mono-, di- a polysacharidy, se liší v závislosti na dostupné potravě v daném ekosystému, kterou se ryby během evoluce přizpůsobily využívat (Rønnestad a kol., 2013). Obecně lze říci, že teplomilné a omnivorní druhy ryb jsou schopny lépe využívat karbohydráty jako zdroj energie, ve srovnání se studenomilnými a karnivorními druhy ryb, které jsou schopny trávit karbohydráty jen částečně nebo vůbec ne (Stone, 2003).

Avšak informace o schopnosti larev ryb trávit karbohydráty jsou velmi strohé. To je dáno i tím, že většina larev při zahájení exogenní výživy konzumuje plankton, který obsahuje jen velmi málo karbohydrátů. Přesto aktivita enzymu amylázy byla zaznamenána u larev mnoha druhů ryb ještě před zahájením exogenní výživy. Trend specifické aktivity amylázy se v průběhu larvální periody značně liší a závisí na potravním habitatu během následující juvenilní periody (Rønnestad a kol., 2013). U sekavce tajvanského byla detekována aktivita amylázy ještě před zahájením exogenní

výživy. Tato skutečnost je dána geneticky. Maximální aktivita byla pozorována ve věku od 7 do 20 dPH. Poté došlo k jejímu poklesu (Zhang a kol., 2015). Oproti tomu Péres a kol. (1996) uvádějí u larev mořčáka evropského – *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) schopnost regulovat aktivitu amylázy v závislosti na obsahu stravitelných karbohydrátů v potravě. Existují i teorie, že larvy přijímají pasivně mikrořasy (obsahující karbohydráty) z okolní vody a z přijatého zooplanktonu. Nicméně přesná funkce amylázy během raného vývoje larev ryb není zcela objasněna (Rønnestad a kol., 2013).

#### 2.4.1.4 Vitamíny

Nároky na vitamíny jsou pravděpodobně relativně uniformní mezi různými druhy ryb a spíše závisí na růstu a metabolismu ryby. Nicméně larvy ryb jsou obecně náchylnější k nedostatku živin, vitamínů a stopových prvků. Jejich strava by proto měla obsahovat nadměrné množství těchto látek i vzhledem k rychle se měnícím nárokům během rané ontogeneze (Holt, 2011). Avšak v současné době není k dispozici dostatek studií potvrzujících vyšší nároky larev ryb na vitamíny (Hamre a kol., 2013). Vzhledem k problematickému odchovu larev mořských druhů ryb, většina informací o nárocích raných ontogenetických stádií ryb na obsah a složení vitamínů a minerálů pochází právě z této oblasti akvakultury (Holt, 2011).

Ve výživě ryb jsou velmi často zmiňované vitamíny E a C, a to pro svou antioxidační funkci (Holt, 2011), díky níž jsou chráněny před svou oxidací nenasycené mastné kyseliny (Hamre a kol., 2010). Zároveň dostatek vitamínu E může částečně pokrývat nedostatek vitamínu C, případně dalších antioxidantů, jako je například astaxantin. Vyšší obsah obou výše uvedených vitamínů má také pozitivní vliv na imunitu a rezistenci vůči stresu u larválních i juvenilních stádií (Hamre a kol., 2010; Hamre, 2011). V případě nedostatku antioxidantů může u ryb v důsledku oxidace lipidů dojít k onemocnění (Tocher a kol., 2002). Mimo to má nedostatek vitamínu E negativní vliv i na kvalitu rybího masa (Hamre, 2011). Dostatečné množství vitamínu C během raného vývoje lze také ovlivnit správnou výživou generačních ryb. Jejich potomstvo (larvální stádia) může po určitou dobu prospívat i v prostředí s nedostatkem vitamínu C. Tento jev byl prokázán jak u larev mořčáka evropského a mořana zlatého (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) (Terova a kol., 1998), tj. zástupců mořských ryb, tak i u sladkovodního druhu ryb - tlamouna mosambického (Soliman a kol., 1986). Zajímavostí je také vyšší relativní ztráta vitamínu C v trávicím traktu larev druhů ryb

s nevyvinutým žaludkem, ke kterému dochází vlivem absence kyselého prostředí. Alkalické prostředí totiž proces degradace vitamínu C významně urychluje (Dabrowski, 1992).

Další vitamín, vitamín A, je esenciální pro formování tělních tkání a orgánů během embryonálního vývoje obratlovců (Hamre a kol., 2010). Avšak jeho přebytek u larev mořských ryb způsobuje skoliózu páteře (Hamre a kol., 2010; Lewis-McCrea a Lall, 2010). Vitamíny D a K se podílejí na správném vývoji kostry. Vitamín K navíc ovlivňuje koagulaci krve (Hamre a kol., 2010).

#### **2.4.1.5 Minerální látky**

Minerální látky lze rozdělit na biogenní prvky (makroelementy), tj. prvky, které organismus potřebuje ve větším množství, a stopové prvky (mikroelementy), které organismus přijímá pouze v nepatrném množství (Dubský a kol., 2003). Fyziologická funkce makro- a mikroelementů u obratlovců zahrnuje strukturální, katalytické a signální transdukce (Lall a Lewis-McCrea, 2007). Vzhledem k tomu, že se tyto funkce mezi oběma skupinami minerálních látek překrývají, existují i různé názory na rozřazení jednotlivých prvků do funkčních skupin. Dalším důvodem jsou i nedostatečné znalosti o požadavcích ryb na minerální látky (Watanabe a kol., 1997).

Poměrně časté jsou studie zabývající se vlivem minerálních látek na vývoj kosterní soustavy u raných stádií ryb. Zde hraje důležitou roli především vápník (Ca) a fosfor (P), podílející se na vývoji a výživě kosterní soustavy. Ryby a další vodní organismy jsou schopné přijímat tyto dva prvky nejen z potravy, ale i z okolního prostředí (vody). Tato schopnost u ryb téměř vylučuje deficit Ca, a to díky jeho dostatečné koncentraci ve sladké i slané vodě (Lall a Lewis-McCrea, 2007). Ryby jsou schopné absorpce Ca z vody už v embryonální periodě. Děje se tak přes chloridové buňky vyvíjející se na pokožce a žábřácích embryí (Hwang a kol., 1994; Li a kol., 1995). Opačná situace nastává u P, který je nutný rybám dodávat v potravě. Kromě Ca a P se na zdravém vývoji a růstu kostí podílejí i zinek (Zn), mangan (Mn) a měď (Cu) (Lall a Lewis-McCrea, 2007; Nguyen a kol., 2008). Pozitivní vliv na přežívání a správné fungování hormonů štítné žlázy byl pozorován u larev mořských ryb kmených potravou obohacenou o jód (Ribeiro a kol., 2012).

Při výživě larev ryb je důležitá i forma minerálů, ve které se do těl ryb dostávají, protože forma ovlivňuje tzv. biodostupnost (z anglického – *bioavailability*), která označuje množství účinné látky, která se dostane v nězměněné podobě do oběhové

soustavy. Minerály jsou do startérů přidávány ve formě premixu, který obsahuje nejen minerální látky, ale i vitamíny často v anorganické formě. V živé (přirozené) potravě jsou však minerály dostupné naopak nejčastěji v organické formě. Tím je ovlivněna nejen biodostupnost těchto látek, ale také zřejmě i jejich metabolismus v těle larev ryb (Holt, 2011).

#### **2.4.2 Živá potrava**

Živá potrava je považována za zlatý standard v umělých chovech ryb. Larvy ryb se na svou přirozenou potravu během fylogeneze specializovaly (Kolkovski, 2001). Přirozená potrava tak plně splňuje nejen veškeré potravní nároky larev na vyvážený poměr živin, vitamínů a stopových prvků, ale také eliminuje výskyt vývojových malformací (Dubský a kol., 2003; Holt, 2011; Malla a Banik 2015). Živá potrava má také pozitivní vliv na trávení larev a to díky přítomnosti autolytických enzymů (Dubský a kol., 2003) nebo zymogenů, které aktivují trávicí enzymy larev. Živá potrava také obsahuje neuropeptidy a výživové „růstové“ faktory zvyšující intenzitu trávení (Kolkovski, 2001).

Použití živé potravy, získané z přírodních zdrojů při komerčním odkrmu raných stádií ryb, je bohužel často omezeno její nedostatečnou dostupností (poptávka je mnohem vyšší než nabídka) a variabilitou početnosti během sezóny. Navíc zde existuje i reálné riziko kontaminace chovu larev patogeny (Malla a Banik, 2015) či dravými buchankami rodu *Acanthocyclops*, které se na larvách živí (Svobodová a kol., 2007). Proto jsou v akvakultuře stále častěji používány potravní organismy, které lze uměle kultivovat. Tím jsou výše uvedená rizika eliminována, za současného zachování pozitivního vlivu na trávení larev (Izquierdo a kol., 2000). Mezi tyto organismy patří zástupci žábbronožek, vírníků, perlooček, klanonožců, hlístic atd. Výběr vhodného potravního organismu by měl vycházet z nutričních nároků daného druhu ryby. Ale i nutriční hodnota potravních organismů se může během jejich vývoje, případně mezi jejich jednotlivými vývojovými stádii, značně měnit (Dabrowski a Rusiecki, 1983).

Nedostatek některých nutričních látek, vitamínů a stopových prvků v některých potravních organismech se dnes může řešit jejich obohacováním během kultivace. Obohacování probíhá pomocí řas, kvasnic, emulze rybího oleje nebo za použití komerčně vyráběné stravy (Aragão a kol., 2004; Malla a Banik, 2015), případně pomocí specifických postkultivačních postupů (Conceição a kol., 2010a). Nicméně forma, ve které je látka v potravním organismu začleněna, je ovlivněna jak vlastním

metabolismem organismu, tak použitou metodou (Bell a kol., 2003; Aragão a kol., 2004) či podmínkami okolního prostředí, například salinitou vody (Aragão a kol., 2004).

#### 2.4.2.1 Žábřonožka solná

Žábřonožky - rod *Artemia* jsou korýši, kteří se používají jako nejčastější přirozené krmivo při odkrmu larev ryb. Tento rod zahrnuje celý komplex pohlavně se rozmnožujících druhů, poddruhů a celou řadu partenogeneticky se množících populací (Sun a kol., 1999), mezi kterými jsou větší či menší rozdíly ve velikosti cyst a v nutriční hodnotě (Helland a kol., 2000; Conceição a kol., 2010a). Hlavní produkce cyst žábřonožek pro akvakulturu pochází z Great Salt Lake, kde se nejčastěji vyskytuje *Artemia franciscana* Kellogg, 1906, dříve chybně označována jako žábřonožka solná *Artemia salina* (L.). Nicméně v tomto jezeře se vyskytují ještě další druhy žábřonožek rodu *Artemia* (Helland a kol., 2000). Z hlediska obtížné determinace žábřonožek používaných při odchovu ryb se budeme v této práci držet označení *Artemia sp.*

Z důvodů častého výskytu problémů s dostupností a zdravotní nezávadností živé potravy se v umělých chovech nejčastěji používá jako první exogenní výživa pro larvy ryb žábřonožka *Artemia sp.*, a to jak ve formě čerstvě vylíhlých nauplií, tak i ve formě dekapsulovaných cyst. Obě formy mají svá pozitiva i negativa. Využitím dekapsulovaných cyst dochází ke snížení času potřebného pro přípravu krmiva, dále množství zkrmených cyst (snížení ekonomické náročnosti) a odpadají problémy s líhivostí cyst (Lim a kol., 2002; Malla a Banik, 2015). U rozkrmu larev kapra obecného a lína obecného - *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) bylo dosaženo velmi dobrých výsledků právě při použití dekapsulovaných cyst (Vanhaecke a kol., 1990; Mamcarz a kol., 2011).

Pokud hovoříme o nutričním složení, existují mezi naupliemi a dekapsulovanými cystami určité rozdíly. Samotné procentuální zastoupení živin v sušině obou variant je přibližně stejné, ale dekapsulované cysty mají vyšší podíl sušiny v průměru o 30 – 40 % než nauplia ve stáří I. instaru. Naopak nauplia mají vyšší podíl volných aminokyselin v proteinu a vyšší podíl volných mastných kyselin (vztaženo k celkovému obsahu lipidů) (Conceição a kol., 2010a). Avšak obsah aminokyselin v naupliích žábřonožek vylíhlých v umělých podmínkách je nižší ve srovnání se zooplanktonem původem z volných vod. Navíc obsah aminokyselin klesá s vývojem nauplia (Dabrowski a Rusiecki, 1983). Žábřonožky *Artemia sp.* také obsahují pigment kanthaxantin, který

hraje důležitou roli jako antioxidant a zdroj vitamínu A (Conceição a kol., 2010a). Jistým úskalím použití dekapulovaných cyst také zůstává skutečnost, že dekapulované artemie se nepohybují a mohou tak být pro některé druhy méně atraktivní až neatraktivní. Toto platí především pro dravé druhy ryb.

#### 2.4.2.2 Vířníci

Vířníci (kmen Rotatoria či Rotifera) dosahují v závislosti na druhu velikosti mezi 70 až 350  $\mu\text{m}$ . Malé velikosti vířníků je využíváno především u druhů ryb, jejichž larvy při přechodu na exogenní potravu nedisponují dostatečně velkým ústním otvorem pro příjem nauplií žábřonožek (Conceição a kol., 2010a). To platí například pro larvy mníka jednovousého, které je nezbytné krmit vířníky alespoň během prvních 10 dní po zahájení exogenní výživy (Shiri Harzevili a kol., 2003). Ze sladkovodních druhů vířníků se nejčastěji kultivuje a jako potrava pro larvy používá vířník *Brachionus calyciflorus* – Pallas, 1766. Významnou výhodou tohoto druhu je jeho schopnost přežít ve sladkovodních nádržích, na rozdíl od nauplií žábřonožek, které ve sladkovodním prostředí hynou po 30 až 60 minutách (Mallia a Banik, 2015).

Při kultivaci vířníků se jako jejich potrava používají kvasnice, řasy nebo komerčně vyráběná krmiva. Způsob výživy vířníků také ovlivňuje jejich nutriční hodnotu (Aragão a kol., 2004; Hamre a kol., 2008). Této schopnosti je, podobně jako u obohacování metanauplií žábřonožek, využíváno i u vířníků.

#### 2.4.2.3 Perloočky

Perloočky (řád Cladocera) jsou dominantní složkou zooplanktonu volných stojatých vod – především jezer a rybníků a hrají velice důležitou roli ve výživě ryb. Z hlediska výživy raných ontogenetických stádií ryb v umělých podmínkách, kde se kultivuje i jejich potrava, hrají velice důležitou roli hrotnatky rodu *Daphnia* a především pak kaluženky rodu *Moina*. Kaluženky dosahují menší velikosti (0,5 – 2  $\mu\text{m}$ ) než hrotnatky, přesto obsahují o 70 % více proteinu. I proto mohou být adekvátní náhradou za žábřonožky (Malla a Banik, 2015). To naznačují i výsledky Adeyema a kol. (1994), kteří uvádějí lepší růst a přežívání larev keříčkovce jihoafrického a k. severoafrického (*Heterobranchus bidorsalis* – Geoffroy Saint-Hilaire, 1809) krměných kaluženkou (konkrétně druhem *Moina dubia* – Guerne & Richard, 1892), ve srovnání s použitím nauplií žábřonožek. Kaluženka byla také s pozitivními výsledky použita pro rozkrm piskoře dálnovýchodního (Wang a kol., 2008a; 2008b; 2009a; 2010).

Kaluženka se živí řasami, bakteriemi a organickými nečistotami. Díky těmto vlastnostem je poměrně snadno kultivována na kvasnicích či řasách (Malla a Banik, 2015).

#### **2.4.2.4 Klanonožci**

Klanonožci (sk. Copepoda) mají vyšší nutriční hodnotu než vířníci nebo žábronožky (Malla a Banik, 2015). Platí to především pro mořské druhy klanonožců, které jsou přirozenou potravou larev mořských druhů ryb (Holt, 2011). Klanonožci obsahují velké množství mastných kyselin typu HUFA ve formě fosfolipidů. Jejich obsah je vyšší než u žábronožek a vířníků, a to i po jejich případném obohacení mastnými kyselinami řady HUFA. Další výhodou je vyšší obsah aminokyselin a jejich kompozice, která lépe odpovídá nutričním požadavkům larválních stádií ryb (Conceição a kol., 2010a).

Nicméně jejich význam tkví ve výživě larev mořských druhů ryb, u kterých larvy krmené klanonožci vykazují výrazně lepší růst a přežívání (Conceição a kol., 2010a; Malla a Banik, 2015). Vzdáleně příbuzné klanonožcům jsou sladkovodní buchanky (především r. *Cyclops*), které se ovšem v akvakultuře cíleně nevyužívají (Malla a Banik, 2015). Mohou však tvořit významnou součást zooplanktonu naloveného ve volné přírodě.

Problematická je prozatím také kultivace klanonožců a to především v masovém měřítku. V intenzivních chovech ryb je proto stále nutné se spoléhat na dostatečnou zásobu této potravy v přirozeném prostředí, kde je lovena (Conceição a kol., 2010a).

#### **2.4.2.5 Další potravní organismy**

Jedním z dalších možných potravních organismů pro intenzivní odkrm raných stádií ryb mohou být larvy pakomára kouřového - *Chironomus pulmosus* (L.), který splňuje nutriční nároky kapra obecného nebo lína obecného (Bogut a kol., 2007). Avšak larvy keříčkovce velkohlavého - *Clarias macrocephalus* (Günther, 1864) krmené larvami pakomára kouřového vykazují nižší přírůstek (Evangelista a kol., 2005). Také kultivace pakomárů je velmi problematická (Mella a Banik, 2015).

Dalším potravním organismem jsou nitěnky (r. *Tubifex*), velmi často používané při odchovu larev jeseterů (Gela a kol., 2012). Navíc použití nitěnek při odchovu larev keříčkovce jihoafrického je z hlediska hmotnostního přírůstku larev efektivnější, než



použití žábřonožky nebo kaluženky (Evangelista a kol., 2005). Bohužel i v případě nitěnek se musíme spoléhat na odlov z přírody.

V poslední době se jako potrava raných stádií ryb začínají používat také hlístice (kmen Nematoda) a to především díky své malé velikosti (v průměru 50  $\mu\text{m}$ ) a metodicky propracované kultivaci, která zahrnuje i možnost jejich obohacení. Jedná se především o druh *Panagrellus redivivus* (L.). Profil aminokyselin hlístic je téměř shodný s profilem žábřonožky. Problémem však je nižší obsah EPA a DHA. I přesto byly hlístice úspěšně aplikovány při odchovu larev tolstolobika bílého - *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844) a kapra obecného. Potenciálním potravním zdrojem jsou také příbuzné nitěnek – roupice, jedná se především o rod *Enchytraeus*), které žijí v půdě a lze je kultivovat už při 15 °C. Prozatím jsou používány hlavně v chovech akvarijních ryb (Mella a Banik, 2015).

Pokud se jedná o využití řas, ve sladkovodní akvakultuře se používají řasy hlavně jako potravní zdroj pro produkci jiných potravních organismů, jako jsou vířníci, perloočky atd. (Conceição a kol., 2010a). Avšak Shiri Harzevili a kol. (2003) uvádějí velmi dobré výsledky v přežívání larev mníka jednovousého krmených řasou (*Chlorella* sp.) během prvních třech dnů po zahájení exogenní výživy.

#### **2.4.2.6 Obohacování potravních organismů**

Nutriční složení potravních organismů je do značné míry ovlivněno potravou, která je použita pro jejich umělou kultivaci. Například kvasnice obsahují dostatek vitamínů řady B, proto i vířníci kultivovaní na kvasnicích netrpí deficitem těchto vitamínů oproti kulturám krmeným řasami (Holt, 2011). Díky tomu lze efektivně zlepšit nutriční hodnotu kultivovaných organismů (např. žábřonožek, vířníků a kaluženek), pomocí modifikované diety nebo specifických postkultivačních postupů tak, aby plně splňovala nutriční nároky konkrétního druhu (Aragão a kol., 2004; Conceição a kol., 2010a). Potravní organismy mohou být tzv. obohaceny o HUFA dlouhým nebo krátkým intervalem krmení specifickým druhem řasy, emulzí lipidů, rybího oleje nebo o lipid obohacenými mikrokapsulemi (Bell a kol., 2003; Conceição a kol., 2010a). Dále lze obohatit o specifické vitamíny a minerály (Holt, 2011). Nicméně, vzhledem k tomu, že se jedná o živé organismy s vlastním metabolismem, nemusí se dodávané látky v organismech začlenit v potřebné formě. Například při obohacení emulzí rybího oleje se mastné kyseliny řady HUFA u vířníků začlení ve formě fosfolipidů. Naopak u žábřonožky dochází k jejich začlenění hlavně ve formě triglyceridů (Conceição a kol.,

2010a). Úspěšnost obohacování je také ovlivněna zvolenou metodou (Aragão a kol., 2004).

Dalším stupněm obohacování živé potravy, který se rozvíjí v posledních letech, je používání vírníků a žábronožek jako vektorů prebiotik a probiotik. Jak prebiotika, tak probiotika zvyšují odolnost larev ryb vůči stresu, zlepšují imunitní reakci a aktivitu trávicích enzymů larev (Hoseinifar a kol., 2014; Dawood a Koshio, 2016). Mimo jiné mohou také zlepšit růstové vlastnosti, denní přírůstek, stravitelnost proteinů (Iranshahi a kol., 2012; Sahandi a kol., 2012; Dawood a Koshio, 2016) a přežívání larev ryb (Salze a kol., 2008; Hoseinifar a kol., 2015). Tento efekt byl prokázán u mnoha druhů ryb (Hoseinifar a kol., 2014). Nicméně může být i zcela opačný, pokud nejsou probiotika a prebiotika larvám předkládány v optimálním množství, které musí být u mnoha druhů teprve stanoveno na základě budoucího výzkumu (Najdegerami a kol., 2013; Heseinifar a kol., 2014; Dawood a Koshio, 2016), stejně jako optimální metody obohacování, jejichž účinnost značně ovlivňuje druh obohacované živé potravy, koncentrace probiotik/prebiotik a načasování aplikace metody v rámci vývoje daného potravního organismu (Fazeli a Azari-Takami, 2006).

### **2.4.3 Mikrobieta**

Jedním z hlavních cílů výzkumu nutričních nároků raných ontogenetických stádií (především larev) ryb je vytvoření vhodné mikrobiety, tj. uměle zformovaného krmiva. Bohužel kvalitativní i kvantitativní nároky ryb se během ontogenetického vývoje mění. Tyto změny jsou ještě výraznější u druhů, které prodělávají dramatické morfologické a fyziologické změny při metamorfóze (Hamre a kol., 2013). Z toho vyplývá, že ingredience, které se jevily zpočátku nevhodné, tj. ryby na začátku larvální periody je nejsou schopné trávit, se mohou, vzhledem k poměrně rychlému vývoji trávicího traktu (Hamre a kol., 2013), postupně během vývoje stát (a to v řádu dní) vhodným zdrojem živin (Holt, 2011). Pro zformulování složení vhodné mikrobiety jsou proto zapotřebí komplexní informace o vývoji trávicího traktu larev a schopnosti larev využívat živiny v různých formách během ontogenetického vývoje (Holt, 2011).

I při dostatečné znalosti potřebných informací o vývoji a nutričních nárocích konkrétního druhu jsou s formulací mikrobiety spjata některá další úskalí. Jedním z nich je uvolňování živin z mikrobiety do okolního prostředí. Právě u mikrobiety je vzhledem k poměru objemu potravních mikročástic a jejich povrchu riziko louhování velmi vysoké (Holt, 2011). V důsledku toho jsou larvy krmeny stravou se změněným podílem

ve vodě rozpustných živin, který neodpovídá jejich nutričním nárokům. Dalším důležitým faktorem je stravitelnost mikrodiety. Ta je jednak ovlivněna v mikrodietě použitým pojivem (tvoří v průměru 5 – 40 % celkové hmotnosti krmiva), jehož stravitelnost se dle druhu pojiva velmi výrazně liší. Také stravitelnost jednotlivých surovin se může během výrobního procesu mikrodiety snižovat (Hamre a kol., 2013). V neposlední řadě je stravitelnost ovlivněna obsahem sušiny. Ingredience zakomponované do mikrodiety obsahující 60 až 90 % sušiny jsou pro larvy jen obtížně stravitelné, oproti zooplanktonu obsahujícímu v průměru jen 10 % sušiny. Jistým východiskem je doplnit krmivo o trávicí enzymy, zejména proteázy, které by napomáhaly trávení larev (Kolkovski, 2001). Pro zlepšení stravitelnosti proteinů se může do krmiva část proteinu dodávat v hydrolyzované formě. Avšak znalosti o optimálním stupni hydrolyzace a množství hydrolyzovaného proteinu jsou stále nedostatečné (Carvalho a kol., 1997).

Přes zmíněná úskalí skýtá používání mikrodiety mnohé výhody. Například pomocí mikrodiety můžeme larvám dodat specifické látky v odpovídajícím množství. Proto také mikrodiety slouží jako jeden z nástrojů pro výzkum nutričních požadavků larev (Cahu a kol., 1998). Především v případě krizových situací může být mikrodietta operativně předkládána larvám bez potřeby jakýchkoli příprav a časového zdržení s kultivací. Ovšem s výzkumem mikrodiet jde ruku v ruce i výzkum živé potravy, kterou lze také obohacovat o specifické látky související s výživou nebo zdravím rybích larev (Ringø a Birkbeck, 1999).

#### **2.4.4 Co-feeding**

V odchovu raných stádií ryb v umělých podmínkách se stále častěji využívá metoda tzv. *co-feedingu*, který spočívá v současném použití živé a suché diety. Tato metoda v umělém chovu slouží k převedení většinou larev nebo juvenilů z živé potravy na striktně suchou dietu – mikrodietu (Conceição a kol., 2010a). Metoda *co-feedingu* se využívá proto, že přímý přechod z živé potravy na suchou potravu nebo rozkrm raných stádií pouze suchou potravou sebou nesou negativní účinky z hlediska růstu a přežívání odkrmovaných ryb. Negativní výsledky při přímém krmení suchou dietou byly u čeledi kaprovitých ryb (Cyprinidae) pozorovány například u lína obecného (Celada a kol., 2009; Dousek a kol., 2009; Mamcarz a kol., 2011) či u kapra obecného (Dabrowski, 1984; Jirásek a kol., 2002; Mareš a kol., 2002). Přímý rozkrm suchou dietou u raných stádií způsobuje také vyšší procento malformací v důsledku neschopnosti larev trávit

suchou stravu (Dousek a kol., 2009). Obecně lze říci, že problém se schopností trávit suchou dietu je velmi častý u ryb, které nemají žaludek (Adámková a kol., 2000). To jsou většinou právě zástupci čeledi kaprovitých nebo sekavcovitých (Cobitidae) ryb (Baruš a Oliva, 1995b), tedy i studovaný piskoř pruhovaný. Naopak co-feeding velmi dobře snáší, a je tedy dobře převoditelný na suchou dietu, tolstolobik bílý (Dabrowski, 1984).

Co-feeding se u ryb aplikuje s cílem postupného převodu na striktně suchou potravu. Pokud se tento převod povede, nese s sebou několik výhod. Krmením suché stravy odpadají chovatelům náklady na kultivaci a nákup živé potravy a zároveň mají možnost dodat larvám v potravě specifické živiny potřebné pro jejich zdárný vývoj (Conceição a kol., 2010a). Metoda co-feedingu se využívá i při odchovu ohrožených druhů ryb, které jsou následně vysazovány do jejich přirozených habitatů (Palińska-Žarska a kol., 2014). Přesto je třeba zvážit, kdy je z hlediska přežívání a růstu larev neekonomičtější zahájit co-feeding (Baskerville – Bridges a Kling, 2000).

Zdá se, že zahájení co-feedingu na začátku larvální periody vede k lepším výsledkům, ve srovnání se zahájením této metody v pozdních stádiích larvální periody. U některých druhů ryb totiž dochází u larev k poklesu schopnosti přijímat a trávit suchá krmiva (startéry) s prodlužující se délkou periody odchovu na živé potravě (Conceição a kol., 2010a).

#### **2.4.5 Co-feeding u piskoře: dosavadní zkušenosti**

Dosavadní zkušenosti s převodem raných stádií piskoře pruhovaného z živé potravy na suchý startér v odborné literatuře doposud chybí. Jistou výjimkou je práce Adámkové a kol. (2000), ve které ovšem nebyla využita metoda co-feedingu, ale larvy byly rozkrmovány pomocí suchého startéru bez využití živé potravy. Výsledky této práce ukazují, že larvy piskoře pruhovaného nejsou schopné ihned strávit startér. Proto hynou krátce po vyčerpání zbylých rezerv ze žloutkového vaku (Adámková a kol., 2000). Proto v rámci této kapitoly DP byly využity dosavadní zkušenosti s metodou co-feedingu u blízce příbuzného druhu piskoře dálnovýchodního.

Ve studii Wanga a kol. (2008b) byla aplikována metoda co-feedingu u larev piskoře dálnovýchodního ve věku 20 dPH po dobu 20 dní. Výsledkem pak byl lepší růst i přežívání. Toto platilo i ve srovnání s pozitivní kontrolou krmenou živou perloočkou - kaluženkou malou (*Moina micrura* - Kurz, 1875). Ve druhé studii (Wang a kol., 2009a) byly larvy piskoře dálnovýchodního nejdříve krmeny vířníky a od stáří 12 dPH pak

u nich probíhal co-feeding s obohacenou a neobohacenou kaluženkou malou. I v tomto případě se promítl pozitivní vliv kombinované živé a suché diety v lepším růstu a přežívání.

Naopak přímé krmení výhradně suchou dietou se u piskoře dálnovýchodního z hlediska přežívání a specifické rychlosti růstu (SGR) nedoporučuje (Wang a kol., 2008b, 2009a).

## **2.5 Úskalí ve výživě zástupců rodu *Misgurnus***

### **2.5.1 Vývoj trávicího traktu**

Přechod larev z endogenní výživy na mixogenní případně exogenní výživu je do značné míry závislý na vývoji trávicí soustavy. Tento vývoj je tedy i klíčový pro zvládnutí a správné načasování krmení larev piskoře.

Stejně jako na celý ontogenetický vývoj, tak i na vlastní vývoj trávicího traktu, má vliv především teplota vody. U piskoře pruhovaného dochází k aktivaci trávicího traktu ve věku 8,5 dPF při teplotě 18 °C. Se stoupající teplotou se tento interval zkracuje a s klesající teplotou naopak prodlužuje (platí pro interval teplotního optima piskoře pruhovaného) (Drozd, 2011). Avšak Drozd (2011) také popisuje ve své práci různé interakce mezi aktivací trávicího traktu přechodem na mixogenní a výhradně exogenní výživu (výživa po úplné absorpci žloutkového váčku). Při odchovné teplotě 18, 21, 24 °C se trávicí trakt aktivuje před zahájením mixogenní výživy. Nicméně v nižších teplotách (12 a 15 °C) nastává aktivace trávicího traktu a přechod na mixogenní výživu téměř současně. Při nižších teplotách je pak výrazně delší prolongace mezi zahájením mixogenní výživy a přechodem na exogenní výživu. Navíc při teplotě 9 °C larvy zahajují mixogenní výživu cca 2 dny před vlastní aktivací trávicího traktu (Drozd, 2011).

Co se týká morfologických změn, má trávicí trakt při vykulení piskoře (piskoře dálnovýchodního) podobu rovné trubice umístěné v dorzální části žloutkového váčku. V průběhu třech dní po vykulení se diferencuje na tři části: hltan (*buccopharynx*), jícen (*oesophagus*) a střevo (*intestinum*). Hltan je nejprve vystlán jednovrstevným dlaždicovitým epitelem, který se během třech dní po vykulení mění na vícevrstevný epitel s chuťovými a sliz vylučujícími pohárky. Jícen se dále diferencuje na přední část s vícevrstevným dlaždicovitým epitelem a zadní část s jednovrstevným cylindrickým epitelem. Pohárkovité buňky se na sliznici jícnu objevují až při proříznutí ústního

otvoru a to pouze v předním regionu jícnu. Nejprve rovná trubice střeva s jednovrstevným cylindrickým epitelem se také ve věku 3 dPH diferencovala na přední a zadní oddíl. Ve věku 10 dPH je vnitřní povrch střeva výrazně zvrásněn a v předním oddílu se objevují pohárkové buňky, jejichž velikost a počet stoupá s vývojem larvy. Ve věku 15 dPH jsou patrné krevní kapiláry v zadním oddílu střeva, které slouží jako transportní most kyslíku mezi střevem a krví (respektive buňkami) (Zhang a kol., 2014).

S vyvíjejícím se trávicím traktem se mění také aktivita enzymů. U sekavce tajvanského byla enzymatická aktivita trypsinu, chymotrypsinu, amylázy a lipázy zaznamenána před přechodem larev na mixogenní výživu. Avšak aktivita pepsinu byla poprvé detekována ve stáří 30 dPH (při teplotě vody 24 °C). To potvrzuje funkčnost žaludečních šťáv a tedy přechod z alkalického na acidické trávení larev. Během odchovu autoři dále popisují zvýšení aktivity enzymů mezi 10 a 20 dPH poukazující na přechod trávení specifického pro juvenilní jedince (Zhang a kol., 2015).

## **2.5.2 Zahájení mixogenní výživy**

Délka mixogenní výživy, kdy larva tráví zbytky žloutkového váčku a zároveň již začala přijímat vnější potravu, je velmi důležitým obdobím v umělém chovu ryb, díky němuž nejsou jedinci na počátku larvální periody tak citliví na nedostatek potravy (Dousek a kol., 2009). Ačkoli délka období mixogenní výživy není závislá na dostupnosti potravy, absorpce žloutkového váčku na tomto aspektu závislá je (Wang a kol., 2010). Proto o odolnosti k hladovění během tohoto období lze hovořit pouze na začátku, kdy zásoby žloutkového váčku dokážou absenci dostupnosti vhodné vnější potravy překlenout.

Časová identifikace mixogenní výživy u piskoře pruhovaného je popsána v kapitole 1.3.2 Larvální perioda. Její nástup a trvání jsou však značně ovlivněny teplotou vody. Se zvyšující se teplotou dochází k přechodu na mixogenní výživu dříve, ale zároveň se i zkracuje délka trvání této periody. Avšak teplotní korelace objemu žloutkového váčku při přechodu na mixogenní výživu je odlišná (Drozd, 2011). Drozd (2011) uvádí objem žloutkového váčku na úrovni 4; 6,5; 6,5; 4,5; 4 a 4 % objemu žloutkového váčku při vykulení, pro teplotu vody 9, 12, 15, 18, 21 a 24 °C. Teplotní optimum piskoře pruhovaného leží mezi 15 - 24 °C v embryonální periodě a mezi 15 – 21 °C pro larvální periodu (Drozd, 2011).

U blízkého příbuzného piskoře dálnovýchodního dochází k zahájení mixogenní výživy 3 dPH (Wang a kol., 2008a; 2010) a k úplné absorpci žloutkového váčku

(ukončení mixogenní výživy a přechodu na exogenní výživu) ve věku 6 dPH při teplotě vody  $23 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$  (Wang a kol., 2010).

Zahájení mixogenní výživy je také doprovázeno vylučováním melaninových ucpávek (z anglického *melanin plugs*) z řitního otvoru, které lze pak pozorovat v podobě malých oválných či tenkých nitkovitých útvarů na dně nádrže (Wang a kol., 2008a).

### **2.5.3 Vliv hladovění**

Alespoň na základě doposud provedených studií lze u piskoře dálnovýchodního konstatovat, že i krátkodobé opoždění zahájení krmení či nepravidelné krmení larev při přechodu na mixogenní výživu má negativní vliv na jejich další vývoj. Zpoždění krmení o pouhý jeden den se dle studie Wang a kol. (2010) projevilo poklesem morfometrických parametrů (retardace růstu) a poklesem přežívání o více jak polovinu oproti larvám, u nichž bylo zahájeno včasné krmení (v souladu se zahájením mixogenní výživy). Zajímavým jevem je i poměrně vysoká citlivost k opoždění zahájení krmení larev piskoře i během období mixogenní výživy (Wang a kol., 2010).

Základní morfometrické parametry piskoře dálnovýchodního, u kterých v důsledku hladovění dochází ke změnám, jsou výška hlavy, výška těla, výška myomer, celková délka těla a objem žloutkového vaku (Wang a kol., 2010). S možnou délkou hladovění larev úzce souvisí také PNR (z anglického – *point of no return*, dále PNR). Jedná se o časově identifikovatelný bod v raném vývoji, kdy 50 % do té doby nekrmených larev není již schopno přijímat nyní předkládanou potravu (Blaxter a Hampel, 1963). U larev také může dojít k situaci, kdy sice konzumují předkládanou potravu a dochází k naplnění trávicího traktu, nicméně tato potrava není trávena či živiny vstřebávány a larvy v důsledku předchozího hladovění následně umírají (Sirol a kol., 1998; Peña a Dumas, 2005). Stejně jako samotný ontogenetický vývoj, i nástup PNR je závislý na teplotě. Se zvyšující se teplotou se zkracuje časový interval do nástupu tohoto bodu (Haylor a Mollah, 1995). K nástupu PNR u piskoře dálnovýchodního dochází při teplotě  $23^{\circ}\text{C}$  ve věku mezi 9 a 10 dPH (Wang a kol., 2010).

### **2.5.4 Nároky na výživu**

Při odchovu raných stádií ryb je nutné dbát důraz na výživové nároky ryb (druh potravy, potravní aktivita ryb, apod.), které se během ontogeneze mění (viz kapitola 1.2.3 Juvenilní perioda), a na základě nich pak upravit způsob výživy. Například

nejvyšší intenzita krmení u 4 dny starých larev piskoře dálnovýchodního chovaných při teplotě vody 23 °C je v 8:00, 12:00 a 18:00 hodin. Nicméně tato potravní aktivita se mění v průběhu ontogeneze. Larvy se vyznačují planktonofágním způsobem výživy a spíše denní potravní aktivitou, zatímco juvenilní jedinci pak bentofágním způsobem výživy a potravu intenzivně přijímají v nočních hodinách (Wang a kol., 2008a).

Wang a kol. (2008a) také odhadli dle intenzity přijímaného krmiva denní krmnou dávku pro piskoře dálnovýchodního ve výši 43,1; 33,4; 19,0; 12,8 a 5,8 % hmotnosti těla pro jedince ve stáří 4, 12, 20, 30 a 40 dPH. Dalším zajímavým aspektem během vývoje tohoto druhu je primárně pozitivní fototaxe (pohyb směrem ke zdroji světla, do světlých částí nádrže) jedinců po vykulení, avšak po dosažení stáří 3 – 6 dní byla zaznamenána typická negativní fototaxe, kdy se jedinci skrývají v zastíněných částech nádrže (Wang a kol., 2008a).

Gao a kol. (2014b) prokázali, že obohacení potravy fosfolipidy (sojový lecitin) v dávce o více jak 23 mg · g<sup>-1</sup> krmiva má pozitivní vliv na růst a přežívání larev piskoře dálnovýchodního. Mimo jiného také dochází ke zvýšení aktivity antioxidantních enzymů, obsahu tuku a poměru neutrálních a polárních lipidů v celém těle piskořů (Gao a kol., 2014b). Také zinek jako doplněk potravy má pozitivní vliv na růst, trávení a imunitní funkci piskoře dálnovýchodního a to v dávce cca 30 mg · kg<sup>-1</sup> krmiva (Hui a An-Xiang, 2013).

Nutriční nároky na proteiny a lipidy v krmivu můžeme pro sekavcovité ryby pouze odvodit na základě dosavadních poznatků u jiných zástupců řádu máloostných ryb (Cypriniformes). Optimální obsah proteinů v juvenilní periodě se pohybuje mezi 35 až 40 % pro kapra obecného (Bártů a Kopp, 2004) a 52,7 % pro lína obecného (González-Rodríguez a kol., 2014). Doporučený obsah lipidů je pro karase stříbřitého - *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) během juvenilní periody přibližně 11 - 12 % (Wang a kol., 2015).

Teprve v nedávné době se několik studií zabývalo optimalizací obsahu hrubého proteinu v krmivu pro piskoře dálnovýchodního. Yan-ping (2009) uvádí optimální obsah hrubého proteinu v krmivu na úrovni 34 – 40 % pro juvenilní jedince (průměrná mokrá individuální hmotnost = 2,3 g). Pokud se obsah hrubého proteinu pohybuje nad uvedené optimum, dochází ke snížení specifické rychlosti růstu ryb (SGR). Wen-Juan a kol. (2014) zase uvádějí optimální obsah hrubého proteinu pro juvenilní jedince piskoře dálnovýchodního (průměrná mokrá individuální hmotnost = 1,72 g) na úrovni 45,5 %, a to i z hlediska specifické rychlosti růstu. Při vyšším obsahu hrubého proteinu sice autoři zaznamenali také pokles SGR, ale toto snížení nebylo vyhodnoceno jako



statisticky průkazné. Kim a kol. (2013) považují na základě svých výsledků za dostačující, z hlediska optimálního růstu juvenilních piskořů dálnovýchodních, obsah hrubého proteinu na úrovni 30 %. Autoři této práce také hodnotili vliv obsahu lipidů v krmivu na růst juvenilů piskoře dálnovýchodního a zjistili, že z testovaných dvou vatriant se osvědčil obsah lipidů na úrovni 7 %, neboť při předkládání potravy s obsahem tuků 14 %, výrazně poklesla jak specifická rychlost růstu, tak i stravitelnost krmiva.

#### **2.5.4.1 Nároky na esenciální aminokyseliny**

Obsah hrubého proteinu v krmivu je do jisté míry pouze orientačním parametrem a nelze na základě jeho prosté hodnoty, tj. bez znalosti kvalitativního složení, usuzovat na vhodnost krmiva pro chované ryby. Kvalitativní složení proteinu významně ovlivňuje stravitelnost a následně metabolizovatelnost krmiva. Nároky na složení proteinu jsou navíc druhově specifické. Jednoznačně nejdůležitější roli hraje obsah a vyváženost esenciálních aminokyselin, z nichž se proteiny skládají, a které jsou nezbytné pro růst i přežívání ryb. Za esenciální (ve výživě jinak nenahraditelných) je pro většinu ryb považováno následujících deset aminokyselin: arginin, histidin, izoleucin, leucin, lysin, metionin, fenylalanin, treonin, tryptofan a valin (Lovell, 1998). Nicméně optimální zastoupení esenciálních aminokyselin v potravě pro piskoře pruhovaného můžeme pouze odhadovat na základě jejich zastoupení v těle příbuzného druhu piskoře dálnovýchodního. Gao a kol. (2012) se věnovali studiu zastoupení jednotlivých esenciálních aminokyselin v těle jak divokých populací, tak uměle chovaných jedinců piskoře dálnovýchodního. Jejich výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Celkový obsah esenciálních aminokyselin (průměr ± S.D.) v těle volně žijících populací a domestikovaných jedinců piskoře dálnovýchodního (*Misgurnus anguillicaudatus*) (podle Gao a kol., 2012)

Aminokyselina	Zastoupení aminokyselin v těle [g · 100 g <sup>-1</sup> sušiny]	
	Divoká populace	Domestikovaná populace
Arginin	2,85 ± 0,12	2,22 ± 0,25
Histidin	1,80 ± 0,11	1,73 ± 0,12
Izoleucin	1,80 ± 0,08	1,59 ± 0,21
Leucin	4,20 ± 0,14	3,76 ± 0,30
Lysin	6,29 ± 0,08	5,30 ± 0,32
Metionin	2,12 ± 0,09	1,90 ± 0,41
Fenylalanin	2,43 ± 0,09	2,24 ± 0,16
Treonin	2,48 ± 0,10	2,21 ± 0,18
Valin	1,23 ± 0,15	1,16 ± 0,06
Tryptofan	1,26 ± 0,10	0,90 ± 0,06

### 3. CÍL PRÁCE

Jedním z cílů předložené diplomové práce je shrnutí dosavadních znalostí o problematice výživy a odchovu raných stádií ryb se zvláštním zaměřením na převod larev ryb (převážně sekavcovitých) z přirozené potravy na suchá startérová krmiva. Tento převod v praxi probíhá pomocí tzv. co-feedingu spočívající v současném krmení živé i suché diety. V rámci umělého odchovu ryb tato metoda s sebou nese mnohé výhody i úskalí. Cílem experimentální části předložené DP tak bylo ověřit vhodnost použití metody co-feedingu při umělém odchovu raných stádií piskoře pruhovaného.

Dílčí cíle experimentální části DP:

- Zhodnotit přežívání, vybrané růstové (morfometrické, gravimetrické) parametry a biochemické ukazatele (podíl makrobiogenních prvků a množství energie v somatických tkáních) v závislosti na různém načasování periody co-feedingu při umělém odchovu raných stádií piskoře pruhovaného.
- Zhodnotit přežívání, vybrané růstové (morfometrické, gravimetrické) parametry a biochemické ukazatele (podíl makrobiogenních prvků a množství energie v somatických tkáních) v závislosti na délce periody co-feedingu při umělém odchovu raných stádií piskoře pruhovaného.
- Porovnat výsledky získané při převodu larev pomocí metody co-feedingu s výsledky dosaženými při odchovu piskoře pruhovaného s použitím pouze živé anebo pouze suché diety.
- Na základě získaných dat v rámci předložené DP a dosavadních znalostí o převodu raných stádií zkoumaného druhu a ostatních zástupců čeledi Cobitidae známých z literatury se pokusit navrhnout optimální postup převodu larev piskoře pruhovaného z živé potravy na suchý startér.

## 4. MATERIÁL A METODIKA

Experiment převodu larev piskoře pruhovaného na suchou potravu pomocí metody co-feedingu probíhal od 8. 5. 2015 do 19. 6. 2015 v akvarijní místnosti Laboratoře aplikované hydrobiologie na Ústavu akvakultury a ochrany vod FROV JU v Českých Budějovicích. Pokus zahrnoval 3 kontrolní skupiny, u kterých nebyla aplikována metoda co-feedingu a 10 experimentálních skupin. Do experimentu byly nasazeny larvy piskoře při zahájení mixogenní výživy ve věku 6 dPH. Larvy a juvenilové byli krmeni v pravidelných intervalech až do stáří 47 dPH při konstantní teplotě (18 °C). Pokus byl založen na hodnocení odezvy larev (z hlediska růstu, přežívání, biochemických ukazatelů somatických tkání) na různé časové zahájení co-feedingu v průběhu raného vývoje (vliv načasování) a na délku periody co-feedingu (interval: 1 nebo 7 dní). U první experimentální skupiny byl co-feeding zahájen ve věku 7 dPH, u poslední pak ve věku 33 dPH. Jako počáteční potrava, tj. jediná dostupná potrava než byl zahájen co-feeding, byla použita dekapulovaná vajíčka žábřonožek *Artemia sp.*

### 4.1 Reprodukce piskoře pruhovaného

#### 4.1.1 Získání a příprava generačních ryb

Generační ryby piskoře pruhovaného získané pro výtěr pocházely z experimentálního rybníčku Experimentálního rybochovného pracoviště a pokusnictví FROV JU ve Vodňanech. Zde byly odloveny 27. 4. 2015 pomocí elektrického agregátu a následně převezeny na ÚA FROV JU v Českých Budějovicích, kde probíhala jak příprava generačních ryb, tak jejich výtěr.

Pro výtěr bylo vybráno 50 generačních samic o individuální hmotnosti od 26,3 do 56,8 g (průměr ± S. D. = 36,9 ± 6,2 g) a 90 generačních samců. Samice byly po odlovu rozděleny do 6 boxů (po 8 až 9 kusech) V každém boxu bylo umístěno vzduchování. Boxy byly umístěny ve vodní lázni temperované na 18 °C. Na stejnou teplotu byla postupně temperována i nádrž, ve které byli společně umístěni všichni generační samci.

Pro účely indukce ovulace a spermiace byla použita dehydrovaná kapří hypofýza obsahující účinnou látku gonadotropin (GtH), a to v celkové dávce 5 mg · kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti. Injikace generačních ryb proběhla 28. 4. 2015. Samecům i samicím byl podán preparát ve dvou dílčích dávkách (0,5 a 4,5 mg · kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti), které od sebe dělil 12 hodinový interval. Preparát byl připraven smícháním rozdrcené kapří hypofýzy s 0,9 % roztokem chloridu sodného – fyziologický roztok (B. Braun Melsungen AG,

Melsungen, Německo). Poměr kapří hypofýzy a fyziologického roztoku byl stanoven tak, aby objem 0,1 ml výsledného roztoku odpovídal dávce určené pro 30 g živé hmotnosti generačních ryb. Vzniklá suspenze kapří hypofýzy byla generačním rybám aplikována insulínovou injekční stříkačkou s jehlou intramuskulárně do hřbetní svaloviny (Příloha č. 4). Před injikací byly generační ryby uspány pomocí anestetika. K anestezii byla využita silice hřebíčkového oleje (firma Dr, Kulich Pharma s. r. o., Hradec Králové) naředěná vodou na koncentraci  $0,05 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ . Anestetikované ryby byly zváženy a na základě hmotnosti každého jedince mu byl injikován odpovídající objem suspenze kapří hypofýzy.

Po každé injikaci byly ryby umístěny zpět do odchovných nádrží, kde byla pomocí termostatu udržována až do zahájení výtěru stálá teplota  $18 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **4.1.2 Umělý výtěr**

Umělý výtěr generačních ryb piskoře pruhovaného probíhal 29. 4. 2015. K iniciaci ovulace jiker u samic došlo za 15,5, k plné ovulaci pak za 18 hodin po aplikaci druhé dávky suspenze hormonálního přípravku. Samci za tuto dobu spermiovali všichni. Před výtěrem byli samice i samci opět anestetizováni v koupeli hřebíčkového oleje o koncentraci  $0,05 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ . Uspaným samicím byla osušena močopohlavní papila a následně byly vytírány pomocí ruční masáže břišní partie do suché misky, tedy tzv. suchou metodou (Příloha č. 5). Vytřené jikry od každé samice byly zváženy a v misce zakryty vlhkým ručníkem, který chránil jikry před osycháním a případnou kontaminací vodou, která by jikry aktivovala ještě před plánovaným osemeněním. Výtěr samců probíhal opakovanou masáží kaudální části břišní partie při současném odsávání vytřené spermatu injekční stříkačkou s konusem (o objemu 1ml) z předem osušené močopohlavní papily (Příloha č. 6).

Vytřené jikry od jednotlivých samic, v rámci každé skupiny, byly smíchány a osemeněny směsí spermatu získaného vždy od 15 samců (Příloha č. 7). Osemeněné jikry byly následně aktivovány přiměřeným množstvím odstáté vodovodní vody. Po 2 až 3 minutách se začaly jikry čistit, promývat vodou a zbavovat se tak zbylého spermatu a nečistot. Následně byly jikry odlepkovány pomocí směsi polotučného mléka a vody smíchaných v poměru 1 : 2 na orbitální třepače RS-OS20 (Phoenix Instrument, Německo) po dobu 50 minut.

Vytřené generační ryby byly umístěny zpět do odchovných nádrží, kde probíhala jejich rekonvalescence.

### 4.1.3 Inkubační systém

Inkubační systém měl charakter recirkulačního akvakulturního systému, jehož součástí byly i inkubační láhve, které ústily do odchovného žlabu o objemu 200 l, kde probíhal odchov eleuterembryí a larev před nasazením do experimentu. Ze žlabu voda samospádem odtékala do spodní sběrné nádrže (400 l) s biomolitaný (bioakvacit). Mechanicky a částečně biologicky předčištěná voda byla dále čerpána do horní zásobní nádrže (400 l) s biologickým čištěním a aerací. Takto přečištěná voda se opět pomocí samospádu vracela do inkubačních láhví.

Odlepkované jikry byly inkubovány v modifikovaných Zugských láhvích (objem 1 l) při teplotě  $18,3 \pm 0,4$  °C. Zahájení masivního kulení bylo pozorováno 2. 5. 2015 ve 14:30 hod. K vykulení 50 % eleuterembryí došlo 2. 5. 2015 mezi 16:00 a 18:00.

## 4.2 Experimentální systém

Odchovný systém pro testování co-feedingu u raných stádií piskoře pruhovaného byl sestaven na principu recirkulačního akvakulturního systému (Příloha č. 8). Systém obsahoval 39 odchovných nádrží umístěných ve dvou řadách. Z odchovných nádrží byla voda odváděna samospádem do 3 sběrných dolních nádrží o celkovém objemu  $3 \times 400$  l, které byly vyplněny bioakvacitem. Tyto nádrže byly horizontálně propojeny tak, aby znečištěná voda z odchovných nádrží protekla přes všechny 3 sběrné nádrže. Tímto způsobem bylo v systému zajištěno mechanické a částečně biologické čištění vody. Biologické čištění vody dále pokračovalo ve 3 horních zásobních nádržích o celkovém objemu  $3 \times 400$  l. V každé z těchto nádrží byl umístěn válcový aerátor, který zabezpečoval několik funkcí. Provdušňoval vodu před vstupem do vlastních odchovných nádrží, zajišťoval pohyb plastových elementů, jimiž byly nádrže vyplněny a tím napomáhal správnému fungování biologického čištění vody. Stejně jako spodní sběrné nádrže i horní byly horizontálně propojeny a přečištěná voda tak musela projít celou touto kolonou. Na konci poslední nádrže vyčištěná voda tekla samospádem zpět do odchovných nádrží přes UV lampu zajišťující dezinfekci vody.

Jednotlivé odchovné nádrže (celkový objem = 20 l, využitý objem = 5 l) byly vybaveny regulací průtoku a přepážkou se sítím, která bránila larvám uniknout z nádrže do odpadu (Příloha č. 9).

Vzhledem k odlišné výživě mezi jednotlivými experimentálními skupinami byl odtok z horní zásobní nádrže preventivně opatřen uhelovým sítím (průměr

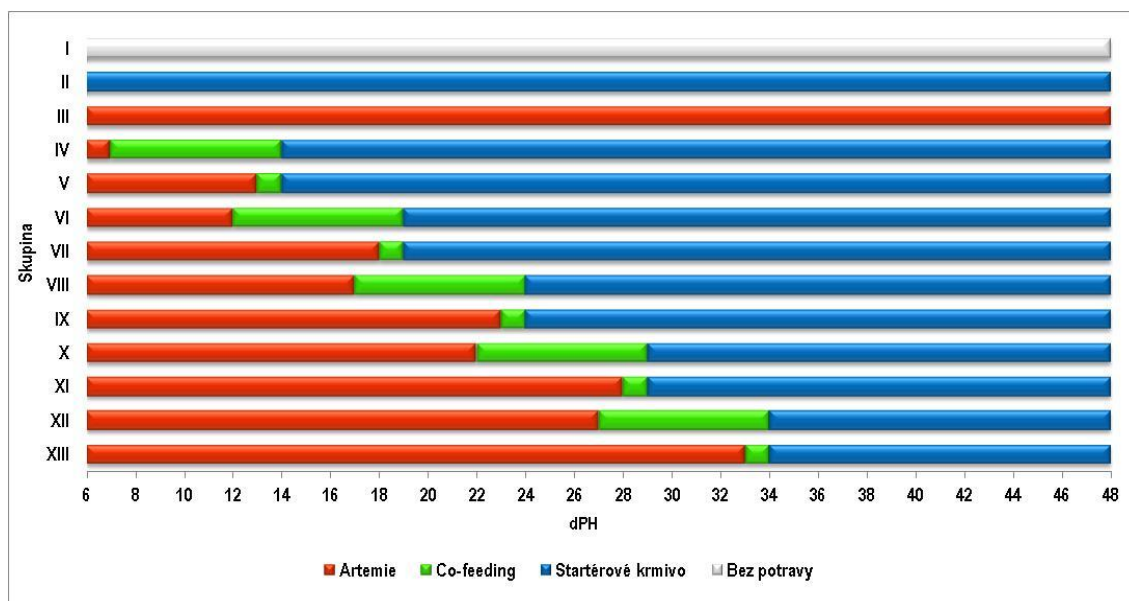
ok = 120 µm), které bránilo přenosu a vnosu jakýchkoliv potravních částic do nádrží (především do odchovných nádrží s hladovou kontrolou). Navíc přítok do odchovných nádrží s hladovou kontrolou byl vybaven dalším uhelovým sítím (průměr ok = 120 µm).

Teplota v systému byla udržována na 18 °C pomocí termostatů (s přesností měření teploty na 0,1 °C), které spínaly dle potřeby chladič nebo akvaristická topítka umístěná v zásobních a sběrných nádržích.

#### 4.2.1 Průběh experimentu

Vlastnímu zahájení experimentu předcházelo nasazení larev piskořů z inkubačního systému do odchovných nádrží ve věku 5 dPH, tj. krátce před zahájením mixogenní výživy. Právě přechod larev piskoře pruhovaného na mixogenní výživu, který Drozd (2011) pozoroval při teplotě vody 18 °C ve stáří 9 dPF, odstartoval experiment. Pokus trval od 8. 5. 2015 do 19. 6. 2015 (42 dní), přičemž každá experimentální skupina (skupina IV až XIII) přijímala výhradně suchou potravu (starter) po dobu minimálně 14 dnů, tj. po dostatečně dlouhou dobu, aby mohl být převod na suché krmivo považován za úspěšný.

Experiment zahrnoval 13 skupin (3 kontrolní a 10 experimentálních) s odlišným režimem výživy. Každá skupina měla 3 opakování (= 3 nádrže). Do každé odchovné nádrže bylo nasazeno 350 jedinců (70 ks.l<sup>-1</sup>) piskoře pruhovaného. První 3 skupiny byly kontrolní: I. hladová kontrola, tj. skupina, kde jedinci nebyli po celou dobu pokusu krmeni. II. negativní kontrola, tj. skupina, kde jedinci byli po celou dobu pokusu krmeni pouze startérovým krmivem (startérem). III. pozitivní kontrola, tj. skupina, kde jedinci byli po celou dobu pokusu krmeni pouze dekapsulovanými cystami žábřonožek *Artemia sp.* Zbývající skupiny, skupiny IV. až XIII., byly krmeny dekapsulovanými cystami žábřonožek *Artemia sp.* až do zahájení periody co-feedingu. Po dobu co-feedingu byla larvám předkládána směs dekapsulovaných cyst žábřonožek *Artemia sp.* a startéru smíchaných v poměru 1 : 1. Po ukončení periody co-feedingu byly larvy krmeny pouze startérem. Ve skupinách IV, VI, VIII, X a XII byl zahájen co-feeding u larev ve věku 7, 12, 17, 22 a 27 dPH a trval po dobu 7 dní. Naopak u larev ve skupinách V, VII, IX, XI a XIII byl co-feeding zahájen ve věku 13, 18, 23, 28 a 33 dPH s dobou trvání 1 den (viz krmné schéma – Obrázek č. 1). V akvarijní místnosti byl udržován světelný režim 12D : 12L (svítilo se od 7:00 do 19:00).



Obrázek č. 1: Krmné schéma v průběhu experimentu (6 – 48 dPH) v jednotlivých experimentálních skupinách: I – hladová kontrola, II – negativní kontrola, III – pozitivní kontrola, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem.

Každý den před nakrmením byly všechny odchovné nádrže vyčištěny a zbaveny výkalů a zbytků krmiva. Dále každý den v 8:00 a 16:00 byla změřena teplota vody, pH, obsah kyslíku a nasycení vody kyslíkem pomocí kapesního multimetru HQ 40d multi (firma Hach, Německo). V týdenních intervalech (8. 5., 15. 5., 22. 5., 29. 5., 5. 6., 12. 6. a 19. 6.2015) byla v nádrži skupiny III měřena koncentrace  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ , celkový Cl a volný Cl. Na základě známého pH a teploty byl z naměřené koncentrace  $\text{NH}_4^+$  ve vodě vypočítán obsah  $\text{NH}_3$ . Výsledné průměrné hodnoty naměřených fyzikálně chemických parametrů jsou uvedeny v tabulce č. 2. V týdenních intervalech byl také v jednotlivých nádržích měřen a korigován průtok, který byl udržován v rozmezí 100 až 150  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$  (průměr  $121 \pm 28 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ).

Tabulka č. 2: Hodnoty fyzikálně chemických parametrů vody (průměr  $\pm$  S.D.) v experimentálním systému, naměřené v průběhu pokusu (od 8. 5. do 19. 6. 2015).

Teplota	$17,8 \pm 0,7 \text{ } ^\circ\text{C}$	$\text{NO}_2^-$	$0,386 \pm 0,208 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
pH	$7,62 \pm 0,15$	$\text{NH}_4^+$	$0,095 \pm 0,053 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Obsah kyslíku	$8,73 \pm 0,54 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$\text{NH}_3$	$0,001 \pm 0,001 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Nasycení vody kyslíkem	$98,2 \pm 27,7 \%$	Celkový Cl	$0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} *$
$\text{NO}_3^-$	$20 \pm 15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	Volný Cl	0

\* Obsah celkové Cl se v průběhu celého experimentu pohyboval pod úrovní detekovaného množství, pouze 5. 6. 2015 bylo ojedinele naměřeno  $0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .



## 4.2.2 Krmení

Potrava byla larvám předkládána od zahájení pokusu 8. 5. 2015 do 18. 6. 2015 v intervalu od 8:00 do 20:00 každé 2 hodiny, tj. denní krmná dávka byla rozdělena do 7 dílčích dávek. Jako potrava byly použity cysty (vejíčka) žábřonožek *Artemia* sp. (Artemia Cysts HE 260; firma Ocean Nutrition, USA), které byly každý den čerstvě dekapsulovány dle metodiky podle Kouby a kol. (2009). Dalšími použitými typy krmiv byly suché startérové směsi (startéry) Larviva ProWean 100 a 300 o velikosti částic 0,08 - 0,20 mm a 0,20 - 0,40 mm (fa Biomar, Francie), složení krmiva je uvedeno v tabulce č. 3 a 4. Velikost startéru se odvíjela od velikosti úst larev. Startér o velikosti částic 0,20 – 0,40 mm byl předkládán od 2. 6. 2015 ve skupinách IX až XIII.

Tabulka č. 3: Složení suché startérové směsi Larviva ProWean 100 a 300 (fa Biomar, Francie) sarže číslo 35935.

Nutriční složení	[%]	Stopové prvky	[mg · kg <sup>-1</sup> ]
Hrubý protein	58	E4 Cu	8,0
Hrubý lipid	12	E5 Mn	14,0
Hrubá vláknina	0,5	E6 Zn	195,5
Popel	11,1	E2 I	2,1
P	1,65	E7 Co	0,32
Ca	2,08	<b>Antioxidanty</b>	<b>[mg · kg<sup>-1</sup>]</b>
Na	0,63	E324 Ethoxyquin	130
<b>Vitamíny</b>	<b>[UI · kg<sup>-1</sup>]</b>	E310 Propylgalát	10
E672 Vitamin A	8 700	E320 Butylhydroxyanisol	5
E671 Vitamin D3	1 700	<b>Probiotikum</b>	<b>[UFC · mg<sup>-1</sup>]</b>
		E1712 <i>Pediococcus acidilacti</i>	2000

Tabulka č. 4: Obsah jednotlivých mastných kyselin ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  krmiva) v suché startérové směsi (Larviva Pro wean 100 a 300) a v cystách žábřonožek (*Artemia Cysts HE 260*).

FA – mastná kyselina (z anglického – *fatty acid*); SFAs – nasycené mastné kyseliny (z anglického – *saturated fatty acids*); MUFAs – mononenasyčené mastné kyseliny (z anglického – *monounsaturated fatty acids*); PUFAs – polynenasycené mastné kyseliny (z anglického – *polyunsaturated fatty acids*).

FA	Obsah jednotlivých FA [ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ krmiva]		
	ProWean 100	ProWean 300	Artemia Cysts HE 260
C14:0	5,54	6,44	0,14
C14:1	0,05	0,04	0,00
C16:0	16,67	20,96	1,85
C16:1(trans)	0,22	0,30	0,01
C16:1	3,98	4,58	0,34
C18:0	2,04	3,16	0,61
C18:1n-9	10,95	14,02	2,86
C18:1n-7	2,69	3,36	0,66
C18:1n-5	0,09	0,10	0,01
C18:2n-6	6,44	12,42	0,75
C18:3n-3	1,12	1,96	5,24
C19:1Tn-12	0,12	0,15	0,01
C19:1n-12	0,11	0,10	0,10
C20:0	0,11	0,12	0,01
C20:1n-9	1,26	1,92	0,07
C20:2n-6	0,16	0,26	0,03
C20:4n-6	0,47	0,50	0,05
C20:3n-3	0,07	0,14	0,13
C20:5n-3	7,41	7,54	0,23
C22:0	0,12	0,17	0,03
C22:1	0,33	0,39	0,01
C22:5n-3	0,71	0,71	0,00
C22:6n-3	11,37	9,61	0,06
C24:0	0,18	0,27	0,02
C24:1	0,51	0,57	0,02
SFAs	24,65	31,13	2,67
MUFAs	20,31	25,53	4,10
PUFAs	27,75	33,16	6,49
n-3	20,67	19,97	5,66
n-6	7,07	13,19	0,83
n-3/n-6	2,92	1,51	6,78

Krmivo bylo naváženo na analytických vahách do scintilačních lahvíček, vždy s jednodenním předstihem na základě stanovené denní krmné dávky (DKD).

Denní krmná dávka byla stanovena vždy na konci sedmidenního intervalu při odebírání vzorků krmených jedinců. Vypočítané množství DKD pro každou jednotlivou odchovnou nádrž bylo rybám aplikováno po dobu následujících sedmi dní, během kterých se její množství neměnilo.

Wang a kol., (2009a) uvádějí odpovídající DKD pro piskoře dálnovýchodního na úrovni 25 % biomasy larev. Nicméně pro účely této DP byl údaj 25 % navýšen na 30 % iniciální biomasy dané odchovné nádrže. Důvodem bylo předejít strádání larev piskoře pruhovaného, v důsledku případných odlišných výživových nároků od výše uvedeného druhu. Aby mohla být stanovena DKD, bylo nejdříve nutné vypočítat biomasu ryb v nádrži pomocí stanovení průměrné individuální hmotnosti ryb (z každé nádrže odebráno a zváženo 15 ks ryb) a přežívání larev na konci sedmidenního intervalu. Pro tento účel byl použit vzorec:

$$DKD = [(N_z - (N_u + N_v)) \cdot W_l] \cdot 0,3 ,$$

kde  $N_z$  představuje počet živých jedinců,  $N_u$  označuje počet uhynulých jedinců a  $N_v$  označuje počet vzorkovaných jedinců na konci sedmidenního intervalu.  $W_l$  představuje průměrnou mokrou hmotnost jedné larvy [mg].

Výjimku tvořila DKD pro první týden experimentu, kdy byla stanovena konstantně na  $500 \text{ mg krmiva} \cdot \text{den}^{-1} \cdot \text{odchovná nádrž}^{-1}$ . Tato DKD byla aplikována larvám pouze v termínu 8. 5. 2015 a 9. 5. 2015. Poté byla DKD, vzhledem k velkému množství rybami nepřijaté potravy, upravena na  $300 \text{ mg krmiva} \cdot \text{den}^{-1} \cdot \text{odchovná nádrž}^{-1}$ .

Při vážení čerstvě dekapulovaných cyst žábřonožek byla vypočtená DKD (určující množství suché potravy) následně vynásobena koeficientem vlhkosti ( $k_v$ ) z důvodu zohlednění obsahu vody v dekapulovaných cystách oproti suchým cystám, tj. DKD musela být navýšena o hmotnost vody obsažené v dekapulovaných cystách. Koeficient vlhkosti byl vypočítán pomocí vzorce:

$$k_v = W_{d.c.} / W_{s.c.} ,$$

kde  $W_{d.c.}$  je hmotnost cyst po dekapulaci a  $W_{s.c.}$  je hmotnost suchých nedekapulovaných cyst.

Takto navážené krmivo pro každou jednotlivou nádrž bylo do druhého dne uskladněno v lednici, aby nedošlo k jeho degradaci. Při vlastním krmení se krmivo

nejprve rozmíchalo v kádince s vodou a poté aplikovalo na první poloviny odchovné nádrže.

### **4.3 Odběr vzorků**

V průběhu experimentu byla odebrána řada vzorků neoplozených jiker, eleuterembryí při kulení ( $H_{50}$ ), larev a juvenilů piskoře pruhovaného pro zhodnocení vlivu načasování a délky periody co-feedingu na morfometrické a gravimetrické ukazatele, obsah biogenních prvků (CHNS-O) a energie (množství spalného tepla) v tělních tkáních.

#### **4.3.1 Vzorky odebrané před zahájením experimentu**

Z vytřených neoplozených jiker každé samice piskoře pruhovaného byl ihned po výtěru odebrán individuální vzorek jiker do předem zvážené epruvety pro stanovení ukazatelů plodnosti vytřených samic. Tyto individuální vzorky jiker byly nejdříve zváženy na analytických vahách a následně zafixovány ve 4 % roztoku formaldehydu. Současně s individuálním vzorkem bylo od každé samice odebráno přibližně 100 mg jiker do sběrné epruvety pro stanovení obsahu CHNS-O a spalného tepla. Tento směsný vzorek obsahující celkově cca 5 g jiker byl až do konečného zpracování uskladněn v hlubokomrazícím boxu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Po skončení procesu kulení (více jak 95 % kulení schopných jedinců opustilo jikru) byl odebrán směsný vzorek 200 ks vylíhlých eleuterembryí. Sto jedinců bylo usmrceno předávkováním anestetikem (hřebíčkový olej v koncentraci  $0,3\text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$  vody) po dobu 15 min a následně zafixováno ve 4 % roztoku paraformaldehydu (PFA) ve scintilační lahvičce. Tento vzorek byl určen na biometrii eleuterembryí. Z důvodu zamezení pokřivení těl a následnému zkreslení morfometrických ukazatelů byl tento vzorek skladován v horizontální poloze. Zbýlých 100 jedinců, určených pro stanovení složení biogenních prvků, bylo usmrceno v ledové vodě, převedeno do kryotuby a skladováno v hlubokomrazícím boxu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.3.2 Vzorkování odkrmovaných larev a juvenilů**

Stejným způsobem jako vzorek vykulených eleuterembryí byl odebrán a zafixován směsný vzorek larev při zahájení mixogenní výživy ( $S_{50}$ ), opět pro stanovení morfometrických ukazatelů (100 ks) a obsahu biogenních prvků (100 ks). Dále bylo odebráno při  $Se_{50}$  cca 4000 larev, které byly usmrceny v ledové vodě, převedeny do

kryotuby a uskladněny v hlubokomrazícím boxu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tento vzorek sloužil pro stanovení spalného tepla. Tyto tři vzorky zachycovaly výchozí stav při zahájení pokusu.

V průběhu experimentu byly v sedmidenních intervalech (15. 5., 22. 5., 29. 5., 5. 6. a 12. 6. 2015) odebírány vzorky larev pro stanovení morfometrických a gravimetrických parametrů. Vzorkování probíhalo vždy před nakrmením (v 8:00) a z každé nádrže bylo odebráno 15 ks larev. Larvy z každé krmné skupiny (v triplicátech) byly smíchány do jednoho směsného vzorku ( $45\text{ ks larev} \cdot \text{skupina}^{-1}$ ) a usmrceny předávkováním anestetikem (hřebíčkový olej v koncentraci  $0,3\text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$  vody) po dobu 15 minut. Usmrcené larvy byly osušeny na filtračním papíře a zváženy na analytických vahách. Na základě individuální hmotnosti larev a údajů o přežívání z jednotlivých skupin byla stanovena DKD pro další sedmidenní interval. Poté byly larvy z každé skupiny zafixovány ve 4 % roztoku PFA ve scintilační lahvičce. Zafixované vzorky larev byly opět uskladněny v horizontální poloze.

### **4.3.3 Ukončení pokusu**

Odchovávané ryby byly jeden den před ukončením pokusu naposledy nakrmeny, poté již krmeny nebyly z důvodu zajištění dostatečného vylučnění a prevence zkreslení sledovaných morfometrických, gravimetrických a biochemických ukazatelů nestrávenou potravou ve střevě. Experiment byl ukončen po 40 dnech, tj. 19. 6. 2015. V každé nádrži byl spočítán počet živých larev, juvenilů. Následně byly z každé skupiny odebrány 3 vzorky larev, juvenilů pro stanovení: a) morfometrických a gravimetrických parametrů, b) obsahu biogenních prvků CHNS-O a c) spalného tepla. Počet jedinců v jednotlivých vzorcích nebyl v rámci skupin konstatní, neboť byl ovlivněn přežíváním larev v jednotlivých nádržích.

## **4.4 Analýza dat**

### **4.4.1 Stanovení ukazatelů plodnosti**

Pro stanovení vybraných ukazatelů plodnosti jednotlivých generačních samic bylo nezbytné stanovit průměrnou hmotnost jedné jikry ( $W_j$ ). Za tímto účelem byl zafixovaný vzorek neoplozených jiker odebraný při výtěru převeden do Petriho misky a pod stereomikroskopem byl stanoven přesný počet jiker. Na základě známého počtu jiker ve vzorku a celkové hmotnosti odebraných jiker byla vypočítána průměrná hmotnost jedné jikry.

U každé generační samice byla vypočítána pracovní absolutní plodnost (PAP) pomocí matematického vzorce:

$$PAP = W_{hj}/W_j ,$$

kde  $W_{h.j.}$  představuje celkovou hmotnost jiker vytřených z jedné generační samice a  $W_j$  průměrnou hmotnost jedné jikry.

Dále byla stanovena pracovní relativní plodnost (PRP) s použitím vzorce:

$$PRP = (W_{hj}/W_j) / W_{gen} ,$$

kde  $W_{gen}$  označuje hmotnost dané samice před výtěrem.

Posledním sledovaným reprodukčním ukazatelem byla relativní plodnost (RP), která byla stanovena pomocí vzorce:

$$RP [\%] = W_{hj}/W_{gen} .$$

#### 4.4.2 Stanovení přežívání

Sledování přežívání bylo v experimentu prováděno každý den, a to nejen během ranního čištění odchovných nádrží, ale průběžně během celého dne, kdy byli do připravených formulářů zapisováni všichni uhynulí a následně odstranění jedinci z jednotlivých nádrží. Vzhledem k tomu, že byly během experimentu z odchovných nádrží odebírány vzorky živých jedinců pro následné analýzy, byl tento aspekt zohledněn při výpočtu přežívání v jednotlivých sedmidenních intervalech. Přežívání bylo vypočítáváno pomocí matematického vzorce:

$$\text{Přežívání} [\%] = [(N_n - N_u)/N_n] \cdot 100 ,$$

kde  $N_n$  označuje počet nasazených larev na počátku experimentu a  $N_u$  označuje počet uhynulých ryb.

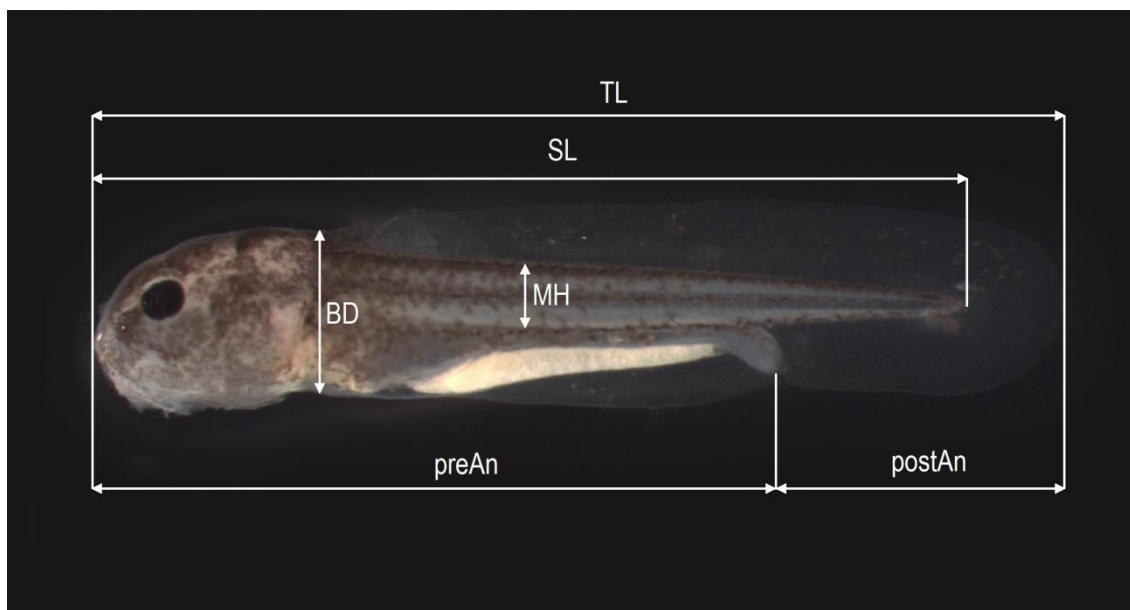
#### 4.4.3 Stanovení morfometrických ukazatelů

Pro stanovení morfometrických ukazatelů bylo z každého vzorku ryb určeného pro biometrii náhodně vybráno 30 jedinců, kteří byli analyzováni. Nejprve byl každý jedinec opatrně osušen na filtračním papíře a přenesen na Petriho misku, která byla naplněna průhledným médiem - 0,1 % roztokem agarózy (směs 30 mg prášku agarózy

a 30 ml destilované vody). Díky roztoku agarózy byly ryby při fotografování zafixovány ve vodorovné poloze a nedocházelo tak ke zkreslení morfometrických ukazatelů při následné analýze obrazu (fotografií). Fotografie byly pořizovány pomocí stereomikroskopu Olympus SZX 16 (s objektivem 0,5 x), který byl vybaven kamerou Infinity 2 (Lumenera Corporation, Kanada) a led osvětlením Olympus KL 2500 LED (vše kromě kamery od firmy Olympus, Japonsko). Po vyfotografování byly ryby vráceny zpět do vzorku se 4 % roztokem PFA.

Poté proběhla analýza obrazu (pořízených fotografií) na PC pomocí programu Quick PHOTO CAMERA verze 3.1. (Olympus, Japonsko). Na pořízených fotografiích byly u ryb měřeny následující morfometrické ukazatele: celková délka těla (TL; z anglického – *total length*), délka těla (SL; z anglického – *standard length*), preanální vzdálenost (preAn; z anglického – *preanal length*), postanální vzdálenost (postAn; z anglického – *postanal length*), výška těla (BD; z anglického – *body depth*) a výška myomer (MH; z anglického - *musculature height*). Způsob měření morfometrických ukazatelů je znázorněn v obrázku č. 2. Rozpoznatelnost výšky myomer byla ovlivněna stupněm ontogenetického vývoje, který byl v tomto experimentu v rámci jednotlivých skupin ovlivněn způsobem výživy. Proto u starších larev, u nichž během vývoje postoupila pigmentace natolik, že nebylo možné přesně určit hranice výšky myoemer, tento parametr nebyl stanoven.

Vedle larev piskoře byla stejným metodickým způsobem stanovena velikost dekapulovaných cyst žábřonožek *Artemie sp.* (vzorek 100 cyst), jejichž velikost se pohybovala v rozmezí od 210 do 251  $\mu\text{m}$  (průměr  $\pm$  S. D. =  $233 \pm 10 \mu\text{m}$ ).



Obrázek č. 2: Schéma základních morfometrických parametrů měřených u piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*). TL, celková délka těla; SL, délka těla; preAn, preanální vzdálenost; postAn, postanální vzdálenost; BD, výška těla; MH, výška myomer.

#### 4.4.4 Stanovení gravimetrických ukazatelů

V rámci DP byla u odebraných vzorků stanovena individuální (průměrná) mokrá hmotnost (WW; z anglického – *wet weight*) a individuální (průměrná) suchá hmotnost (DW; z anglického – *dry weight*). Stanovení obou parametrů na sebe v pracovním postupu navazovalo a provádělo se na rybách až poté, kdy proběhlo stanovení morfometrických ukazatelů. Pro stanovení WW a DW byli použiti všichni jedinci z daného vzorku. Nejprve se ryby jednotlivě důkladně osušily na filtračním papíře. Následně se i s váženkou po 1 až 10 kusech (v závislosti na velikosti jedinců) umístily na laboratorní mikrováhy Mettler Toledo Excellence Plus XP6 (Mettler-Toledo Švýcarsko) pro stanovení mokré hmotnosti (WW).

Takto osušené a zvážené ryby byly přeneseny po 5 – 20 kusech (opět v závislosti na velikosti) na předem zvážený a řádně označený kousek alobalu. Přípravené kousky alobalu s rybami byly uloženy do laboratorní sušárny vyhřáté na 105 °C a nechaly se zde sušit po dobu 12 hodin. Po uplynutí 12 hodin byly vzorky s vysušenými rybami ze sušárny vyjmuty a umístěny na 10 minut do eksikátoru se silikagelem. Díky tomu vzorky vychladly, aniž by došlo k absorpci vzdušné vlhkosti. Vychladlé vzorky ryb byly opět zváženy na laboratorních mikrováhách. Od hmotnosti vysušených vzorků se



odečetla hmotnost daného kousku alobalu, výsledkem byla individuální (průměrná) suchá hmotnost (DW) samotných ryb. Stejným způsobem probíhalo stanovení suché hmotnosti u vzorků jiker.

#### **4.4.5 Stanovení prvkového složení a spalného tepla**

Vzorky neoplozených jiker, eleuterembryí při H<sub>50</sub>, larev při S<sub>50</sub> a vzorky jedinců piskoře pruhovaného při ukončení experimentu, které byly uchovávány při teplotě – 80 °C, byly podrobeny analýze základních biogenních prvků (CHNS-O) a spalného tepla ve spolupráci s laboratoří Oddělení geochemie Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR v. v. i. (vedoucí: Mgr. Martina Havelcová, Ph.D.). Před samotným měřením se předem zvážené a rozmražené vzorky nejdříve převedly na filtrační papír a vysušily v laboratorní sušárně při teplotě 55 °C po dobu 12 hodin. Následně byl vysušený vzorek zvážen na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Z rozdílu mezi mokrou a suchou hmotností byl pro každý vzorek stanoven procentuální podíl sušiny.

Vysušené vzorky byly následně zhomogenizovány v achátové misce za pomoci tloučku. Prvkové analýzy vzorků proběhly na prvkovém analyzátoru ThermoFinniganFlash EA 1112 (Finnigan, Itálie). Principem analýzy vzorků je stanovení procentuálního zastoupení uhlíku – C, vodíku – H, dusíku – N, síry – S a kyslíku O a to na základě obsahu následujících plynů: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> a přebytečného O<sub>2</sub>, které se uvolňují při silné exotermické reakci (~ 1800 °C) při spalování vzorku v proudu kyslíku. Vzniklé plyny jsou detekovány na TCD detektoru. Procentuální zastoupení jednotlivých prvků je následně přepočítáno softwarem.

Stejným způsobem jako vzorky pro prvkovou analýzu byly připraveny i vzorky pro stanovení spalného tepla (v analytickém i bezvodém vzorku). To bylo stanoveno termickou analýzou pomocí kalorimetru MS 10A (Laget, ČR), kdy bylo měřeno množství ze vzorku uvolněné energie a následně dopočítáno tzv. spalné teplo (vzorky analyzovala a spalné teplo dopočítala Ing. Eva Melichárková – ÚSMH AV ČR v.v.i.).

#### **4.4.6 Statistické zhodnocení dat**

Data získaná v experimentu byla statisticky vyhodnocena v programu STATISTICA 12.0 (firma Stat Soft, Inc., USA). Normalita dat byla testována pomocí Kolmogorov-Smirnov testu. Metody jednocestné analýzy variance (jednocestná ANOVA) byly použity pro zjištění odlišností proměnných závislých na zahájení co-feedingu (zahájení 13, 18, 23, 28 a 33 dPH). Pokud byl výsledek jednocestné analýzy

variance statisticky průkazný (tj. došlo k zamítnutí nulové hypotézy), byla data dále podrobena mnohonásobnému porovnání pomocí Tukeyho HSD testu pro určení průkaznosti/ neprůkaznosti odlišností mezi jednotlivými skupinami s různým časem zahájení co-feedingu. Ke stanovení závislosti proměnných na délce co-feedingu (1 a 7 dní) byl použit dvouvýběrový T-test pro nezávislé vzorky.

Pro grafické znázornění jednotlivých vztahů byl využit program Microsoft Office Excel 2007 (firma Microsoft Corporation, USA).

## **5. VÝSLEDKY**

### **5.1 Plodnost**

Plodnost uměle vytřených samic piskoře pruhovaného zachycuje několik ukazatelů plodnosti. Pracovní absolutní plodnost (PAP) se pohybovala od 2035 do 8214 jiker na jednu samici (průměr  $\pm$  S. D.:  $4686 \pm 1520$  jiker  $\cdot$  samice<sup>-1</sup>). Pracovní relativní plodnost dosahovala hodnot od 57,9 do 197,7 tisíce jiker  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti samice ( $128,1 \pm 36,7$  tisíc jiker  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  samice<sup>-1</sup>). Hodnoty relativní plodnosti (RP) nabývaly hodnot v rozmezí od 5,8 do 22,1 % ( $13,8 \pm 4,2$  %). Průměrná mokrá hmotnost jedné vytřené jikry byla  $1,07 \pm 0,07$  mg (rozsah: 0,92 – 1,24 mg). Průměrná individuální suchá hmotnost jedné jikry nabývala hodnot od 0,24 do 0,38 mg ( $0,30 \pm 0,01$  mg).

### **5.2 Vliv načasování zahájení co-feedingu na přežívání larev, juvenilů**

Kumulativní přežívání pro jednotlivé skupiny na konci pokusu (48 dPH) zachycuje tabulka č. 5. Průběh přežívání v čase pro jednotlivé skupiny (interval mezi pozorováními je 7 dní) je znázorněn v obrázku č. 3. Statisticky průkazné rozdíly v přežívání mezi skupinami byly nalezeny od stáří 13 dPH. Tento trend trval až do konce pokusu (Tabulka č. 6).

Tabulka č. 5: Kumulativní přežívání (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH).

I – hladová kontrola po celou dobu pokusu nebyla krmena, II – negativní kontrola krmena startérovým krmivem, III – pozitivní kontrola krmená dekapsulovanými cystami žábronožek, IV až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)

Experimentální skupina	Kumulativní přežívání [průměr ± S.D.; %]
I *	0,0 ± 0,0
II **	0,0 ± 0,0
III	33,9 ± 6,5
IV **	0,0 ± 0,0
V **	0,0 ± 0,0
VI	29,3 ± 4,8
VII	26,8 ± 3,6
VIII	50,0 ± 6,5
IX	43,3 ± 9,6
X	57,5 ± 3,5
XI	49,6 ± 9,1
XII	56,6 ± 6,8
XIII	54,5 ± 3,1

\* Experimentální skupina uhynula ve věku 20 dPH

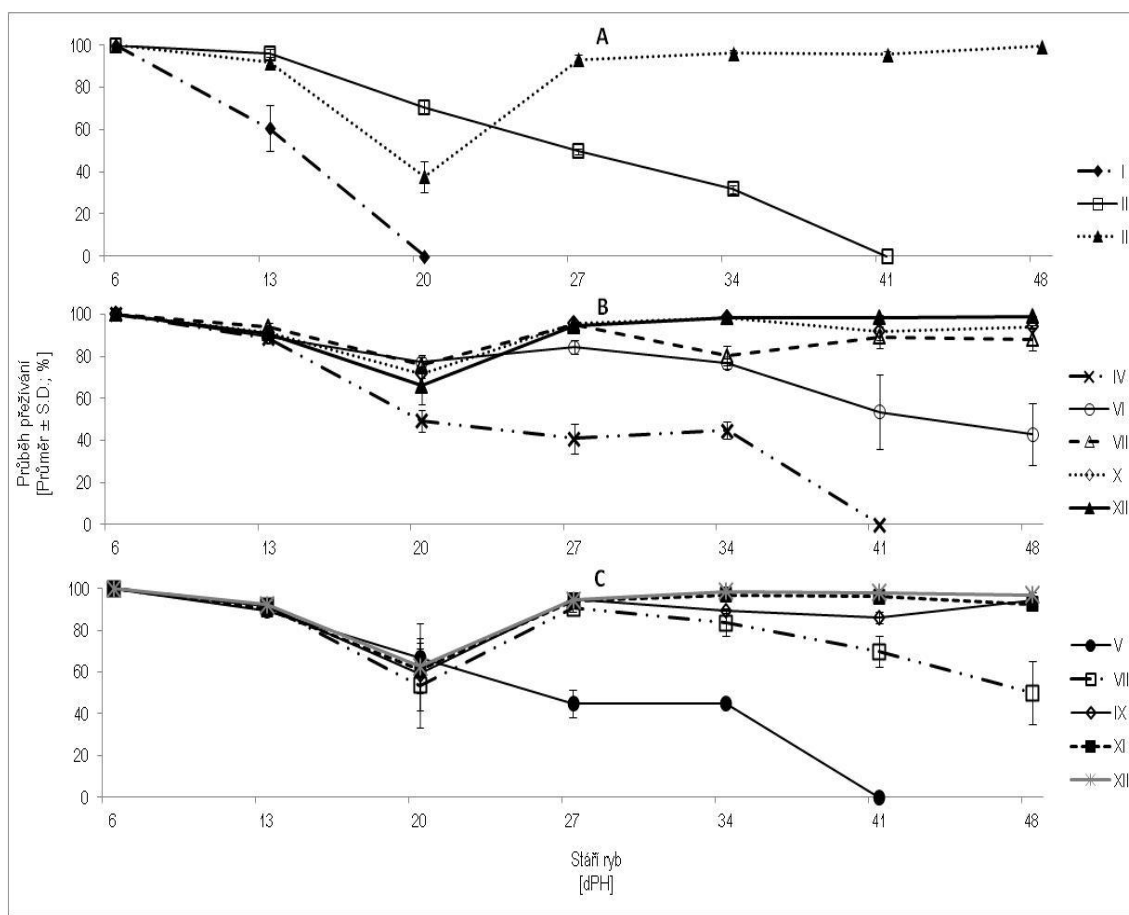
\*\* Experimentální skupina uhynula ve věku 41 dPH

Tabulka č. 6: Výsledky statistického zhodnocení (jednocestná ANOVA) průběhu přežívání larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v rámci experimentálních skupin v dílčích časových intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH).

dPH	Jednocestná ANOVA
13	F (12, 26) = 13,343, P = 0,01
20	F (12, 26) = 7,9854, P = 0,01
27	F (11, 24) = 86,931, P = 0,01
34	F (11, 24) = 141,66, P = 0,01
41	F (11, 24) = 21,111, P = 0,01
48	F (8, 18) = 17,722, P = 0,01

Pomocí Tukeyho HSD testu byly odhaleny statisticky průkazné rozdíly ( $P = 0,01$ ) v průběhu přežívání (testování proběhlo v 7-denních intervalech, stáří: 13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH) mezi jednotlivými skupinami (viz Obrázek č. 4). Mezi nejvýznamnější výsledky patří následující zjištění. Výrazný pokles průběhu přežívání oproti všem ostatním skupinám byl zaznamenán v hladové kontrole (skupina I) již v době 13 dPH. Ve věku 20 dPH kleslo přežívání v této skupině až na úroveň  $5,5 \pm 0,6$  % (přežívání odpovídá 7 posledním přeživším larvám, které byly následně odebrány pro stanovení

biometrie) a v dalším statistickém zhodnocení se skupina I neobjevuje (všichni jedinci zemřeli). Náhlý propad v průběhu přežívání ve všech zbývajících skupinách (skupiny II až XIII) je patrný mezi 13 a 20 dPH s nejvyšším počtem uhynulých jedinců mezi 17 a 18 dPH. Nicméně v intervalu 20 – 27 dPH průměrné přežívání vzrostlo ve skupinách III (pozitivní kontrola) a VI až XIII na hodnoty  $84,5 \pm 3,4$  % (sk. VI) až  $95,7 \pm 0,6$  % (sk. X). Mezi těmito skupinami nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl ( $P = 0,01$ ). Výjimku tvořily skupiny II (negativní kontrola), IV a V (zahájení co-feedingu 7, respektive 13 dPH), které se od všech dalších skupin statisticky průkazně lišily (přežívání je nižší), avšak mezi sebou nikoliv ( $P = 0,05$ ). Trend zaostávání průběhu přežívání (přežívání neustále klesá v jednotlivých časových intervalech) těchto skupin oproti všem zbývajícím skupinám je patrný až do stáří 41 dPH (ve všech časových intervalech statisticky průkazný), kdy hynou poslední jedinci v těchto skupinách (100 % mortalita). Skupiny II (negativní kontrola), IV a V (zahájení co-feedingu 7, respektive 13 dPH), stejně tak jako skupina I (hladová kontrola), se nedožívají konce pokusu (48 dPH).



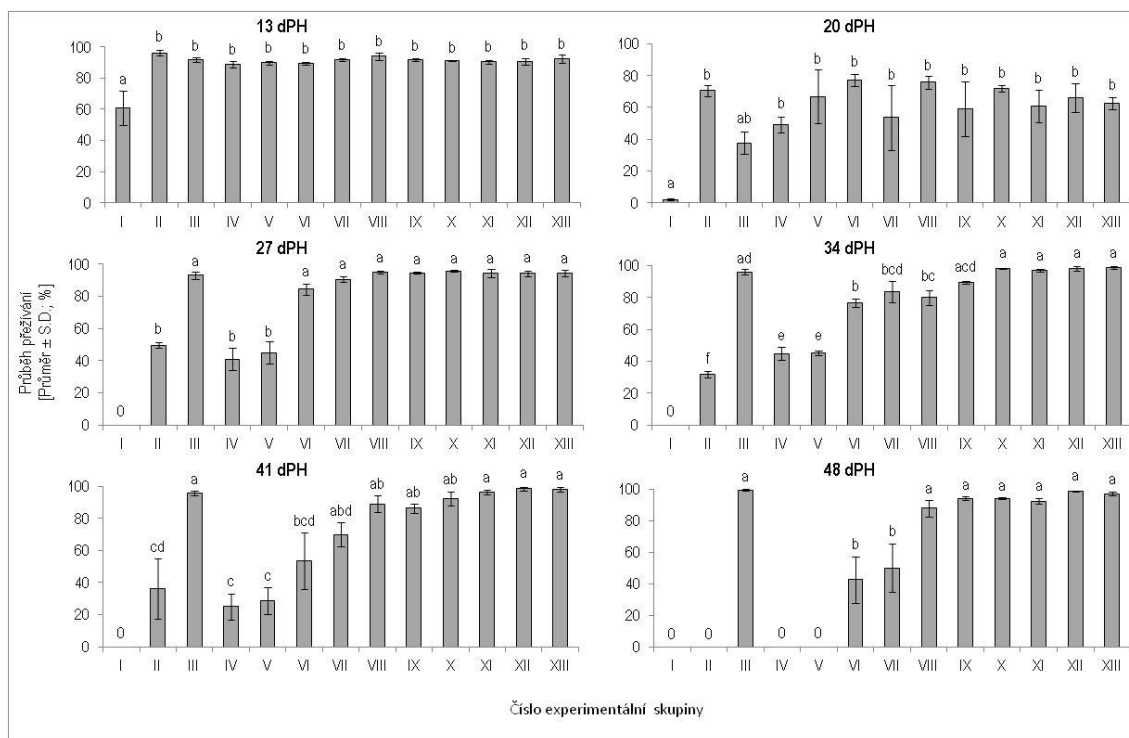
Obrázek č. 3: Průběh přežívání (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v čase (interval mezi pozorováními: 7 dní) pro jednotlivé skupiny během celého pokusu (6 – 48 dPH).

A – přežívání v kontrolních skupinách (skupina I, II a III); B – přežívání v experimentálních skupinách se 7-denní délkou co-feedingu (skupiny IV, VI, VIII, X a XII); C – přežívání v experimentálních skupinách s 1-denní délkou co-feedingu (skupiny V, VII, IX, XI a XIII).

Od stáří 27 dPH do konce experimentu (48 dPH) nebyl nalezen po celou dobu (v žádném časovém intervalu) statisticky průkazný rozdíl ( $P = 0,01$ ) v trendu přežívání mezi skupinami III (pozitivní kontrola) a IX až XIII. Po celý zbytek pokusu bylo u těchto skupin přežívání v jednotlivých dílčích časových intervalech velmi vysoké. Na konci experimentu (48 dPH) dosahoval trend přežívání u těchto skupin hodnot  $92,6 \pm 2,0$  % (sk. XI) až  $98,8 \pm 0,3$  % (sk. XII).

Mírně nižší průběh přežívání byl zaznamenán ve skupině VIII (zahájení co-feedingu 17 dPH) v časovém intervalu 27 – 34 dPH, kdy se s průměrnou hodnotou trendu přežívání  $80,1 \pm 4,6$  % tato skupina statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) nelišila od skupin VI a VII (zahájení co-feedingu 12, resp. 18 dPH). Nicméně už v průběhu

intervalu 34 – 41 dPH se trend přežívání ve skupině VIII opět zvýšil. V časovém úseku 41 – 48 dPH (do ukončení pokusu) pak nebyl dokonce nalezen statisticky významný rozdíl ( $P = 0,01$ ) v průběhu přežívání u skupiny VIII a III (pozitivní kontrola). Naopak statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) nižší průběh přežívání byl zaznamenán ve skupinách VI ( $42,7 \pm 14,7$  %) a VII ( $50,2 \pm 15,1$  %) ve srovnání se skupinou III (pozitivní kontrola) na konci experimentu (48 dPH). První známky poklesu průběhu přežívání ve skupinách VI a VII byly zaznamenány již v průběhu intervalu 27 – 34 dPH.

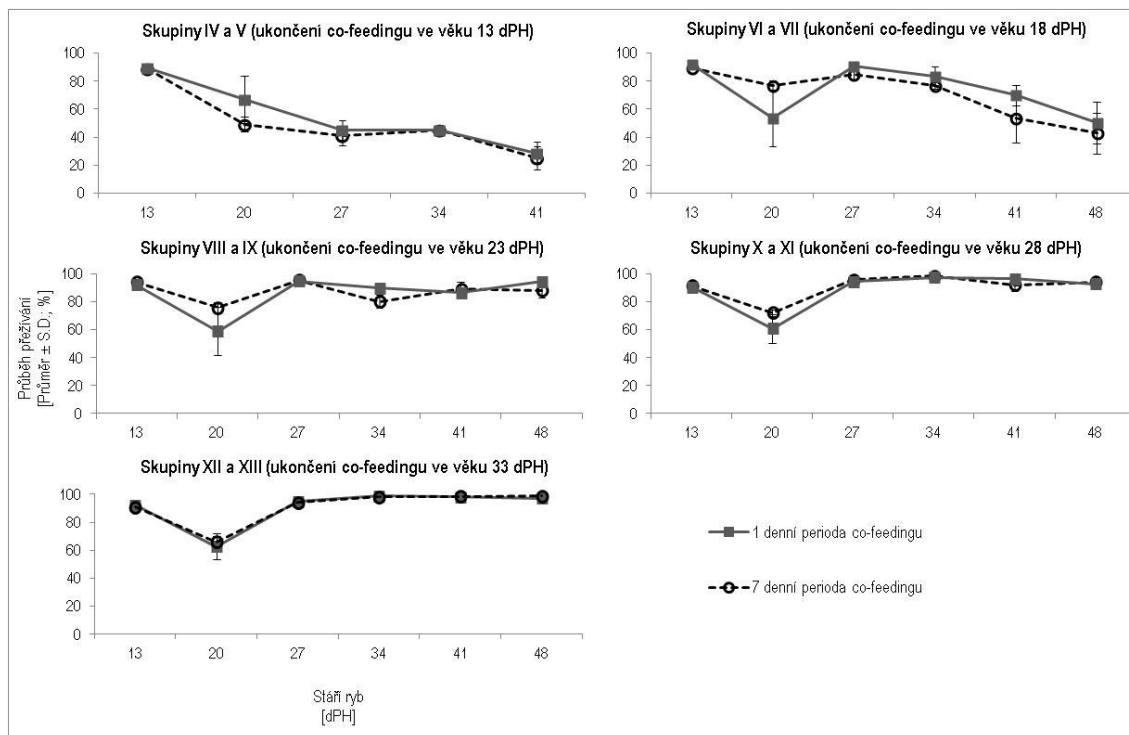


Obrázek č. 4: Průběh trendu přežívání (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách v dílčích 7-denních intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe v daném intervalu statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.

### 5.3 Vliv délky periody co-feedingu na přežívání larev, juvenilů

Vliv délky periody co-feedingu (1 či 7 dní co-feedingu) na průběh přežívání během jednotlivých dílčích časových intervalů nebyl u raných vývojových stádií (larev a juvenilů) piskoře pruhovaného prokázán. Na základě výsledků dvouvýběrového T-testu nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl ( $P = 0,01$ ) mezi jednotlivými dvojicemi, tj. skupinami se shodným termínem ukončení co-feedingu (13, 18, 23, 28 a 33 dPH) lišícími se délkou periody co-feedingu (1 a 7 dní) v žádném ze sledovaných časových intervalů. Z grafického znázornění průběhu přežívání jednotlivých dvojic (Obrázek č. 5)

je patrné, že jak skupiny s 1-denním, tak se 7-denním co-feedingem opisují v jednotlivých dílčích časových úsecích podobný trend v průběhu přežívání.



Obrázek č. 5: Porovnání průběhu trendu přežívání (průměr ± S.D.) mezi dvojicemi experimentálních skupin se shodným ukončením co-feedingu lišícími se v délce periody co-feedingu (1 a 7 dní co-feedingu) v jednotlivých dílčích 7-denních intervalech u larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*).

#### 5.4 Vliv načasování zahájení co-feedingu na růst

Čerstvě vykulená eleuterembrya piskoře pruhovaného dosahovala těchto morfometrických a gravimetrických parametrů: Průměrná celková délka těla (TL) =  $4,75 \pm 0,16$  mm, průměrná délka těla (SL) =  $4,57 \pm 0,15$  mm, průměrná preanální vzdálenost (preAn) =  $3,81 \pm 0,16$  mm, postanální vzdálenost (postAn) =  $0,99 \pm 0,05$  mm, průměrná výška těla (BD) =  $0,68 \pm 0,04$  mm, průměrná výška myomer (MH) =  $0,33 \pm 0,02$  mm, průměrná mokrá hmotnost (WW) =  $0,95 \pm 0,05$  mg a průměrná suchá hmotnost (DW) =  $0,28 \pm 0,01$  mg. Na začátku pokusu (6 dPH) byly do experimentálního systému nasazeny larvy při zahájení mixogenní výživy, které dosahovaly následujících morfometrických parametrů: průměrná celková délka těla (TL) =  $6,98 \pm 0,18$  mm, průměrná délka těla (SL) =  $6,27 \pm 0,18$  mm, průměrná preanální vzdálenost (preAn) =  $4,94 \pm 0,16$  mm, průměrná postanální vzdálenost (postAn) =  $2,02 \pm 0,09$  mm, průměrná výška těla (HB) =  $1,09 \pm 0,04$  mm a průměrná



výška myomer (HM) =  $0,50 \pm 0,02$  mm. Pro nasazené larvy byla také stanovena průměrná mokrá hmotnost (WW) =  $2,12 \pm 0,10$  mg a průměrná suchá hmotnost (DW) =  $0,22 \pm 0,01$  mg. V průběhu pokusu pak byly v jednotlivých dílčích časových intervalech stanoveny a vyhodnoceny výše uvedené, vybrané růstové (morfometrické a gravimetrické) parametry.

#### 5.4.1 Morfometrické parametry

V rámci experimentálních skupin byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly ve všech sledovaných morfometrických parametrech (TL, SL, preAn, postAn, BD, MH) v jednotlivých časových intervalech a to od stáří 13 dPH. Tento trend je patrný až do konce pokusu (Tabulka č. 7). Hodnoty morfometrických parametrů naměřených u larev a juvenilů na konci pokusu (48 dPH) jsou uvedeny v tabulce č. 8. Průběh růstu larev/juvenilů v dílčích časových intervalech pro celkovou délku těla (TL) a délku těla (SL), preanální (preAn) a postanální (posAn) vzdálenost a výšku těla (BD) a výšku myomer (MH) zachycují obrázky č. 5 – 7.

Tabulka č. 7: Výsledky statistického zhodnocení (jednocestná ANOVA) jednotlivých sledovaných morfometrických parametrů (TL, SL, preAn, postAn, BD, MH) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v rámci experimentálních skupin v dílčích časových intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH).

dPH	Jednocestná ANOVA		
	Celková délka těla (TL)	Délka těla (SL)	Preanální vzdálenost (preAn)
13	F (12, 377) = 67,811, P = 0,01	F (12, 377) = 69,677, P = 0,01	F (12, 377) = 67,823, P = 0,01
20	F (12, 354) = 82,631, P = 0,01	F (12, 354) = 86,172, P = 0,01	F (12, 354) = 102,01, P = 0,01
27	F (11, 348) = 201,99, P = 0,01	F (11, 348) = 209,44, P = 0,01	F (11, 348) = 205,41, P = 0,01
34	F (11, 348) = 267,26, P = 0,01	F (11, 348) = 255,42, P = 0,01	F (11, 348) = 250,13, P = 0,01
41	F (11, 282) = 108,39, P = 0,01	F (11, 282) = 100,27, P = 0,01	F (11, 282) = 97,881, P = 0,01
48	F (8, 261) = 76,644, P = 0,01	F (8, 261) = 68,194, P = 0,01	F (8, 261) = 67,966, P = 0,01
	Postanální vzdálenost (postAn)	Výška těla (BD)	Výška myomer (MH) *
13	F (12, 377) = 31,626, P = 0,01	F (12, 377) = 119,02, P = 0,01	F (12, 377) = 77,375, P = 0,01
20	F (12, 354) = 27,886, P = 0,01	F (12, 354) = 85,008, P = 0,01	F (12, 354) = 44,993, P = 0,01
27	F (11, 348) = 139,68, P = 0,01	F (11, 348) = 214,50, P = 0,01	F (11, 348) = 164,23, P = 0,01
34	F (11, 348) = 225,42, P = 0,01	F (11, 348) = 258,18, P = 0,01	F (4, 145) = 116,04, P = 0,01
41	F (11, 282) = 99,293, P = 0,01	F (11, 282) = 102,97, P = 0,01	F (3, 50) = 15,674, P = 0,01
48	F (8, 261) = 79,569, P = 0,01	F (8, 261) = 81,415, P = 0,01	-

\* Stanovení výšky myomer (MH) bylo závislé na rychlosti ontogenetického vývoje larev, respektive použitím krmeném režimu v jednotlivých experimentálních skupinách (viz kapitola 2.4.4 Stanovení morfometrických parametrů).

Tabulka č. 8: Morfometrické parametry (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH).

I – hladová kontrola po celou dobu pokusu nebyla krmena, II – negativní kontrola krmena startérovým krmivem, III – pozitivní kontrola krmená dekapsovanými cystami žábronožek, IV až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

Experimentální skupina	Morfometrické parametry [průměr ± S.D.; mm]					
	TL	SL	preAn	postAn	BD	MH ***
I *	6,9 ± 0,3	6,2 ± 0,3	4,8 ± 0,3	2,0 ± 0,2	0,9 ± 0,0	0,4 ± 0,0
II **	11,0 ± 1,1	9,9 ± 1,0	7,7 ± 0,8	3,3 ± 0,4	1,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1
III	29,1 ± 4,1	25,1 ± 3,8	18,5 ± 2,9	10,5 ± 1,3	4,3 ± 0,7	1,3 ± 0,2
IV **	12,3 ± 0,1	11,0 ± 0,2	8,5 ± 0,4	3,7 ± 0,3	1,8 ± 0,1	0,8 ± 0,0
V **	11,5 ± 1,7	10,4 ± 1,2	7,9 ± 1,0	3,6 ± 0,8	1,7 ± 0,3	0,7 ± 0,1
VI	18,0 ± 3,1	15,8 ± 2,7	11,7 ± 1,9	6,4 ± 1,3	2,3 ± 0,4	1,0 ± 0,1
VII	18,0 ± 2,7	15,7 ± 2,3	11,5 ± 1,7	6,5 ± 1,1	2,3 ± 0,4	1,2 ± 0,2
VIII	19,7 ± 2,4	17,3 ± 1,9	12,9 ± 1,4	6,9 ± 1,0	2,6 ± 0,3	1,2 ± 0,1
IX	22,0 ± 2,5	19,2 ± 2,2	14,2 ± 1,6	7,8 ± 0,9	3,0 ± 0,4	1,4 ± 0,2
X	26,1 ± 1,8	22,5 ± 1,5	16,6 ± 1,1	9,5 ± 0,8	3,5 ± 0,3	1,4 ± 0,2
XI	25,0 ± 1,5	21,5 ± 1,3	16,1 ± 1,0	8,9 ± 0,6	3,5 ± 0,2	1,4 ± 0,1
XII	27,3 ± 1,8	23,4 ± 1,6	17,3 ± 1,2	10,0 ± 0,6	3,6 ± 0,3	1,4 ± 0,1
XIII	26,8 ± 2,4	22,9 ± 2,1	17,0 ± 1,5	9,8 ± 0,9	3,5 ± 0,4	1,4 ± 0,1

\* Poslední stanovení morfometrických parametrů proběhlo ve věku 20 dPH, hodnocení v následujícím intervalu se jedinci v experimentální skupině nedožily.

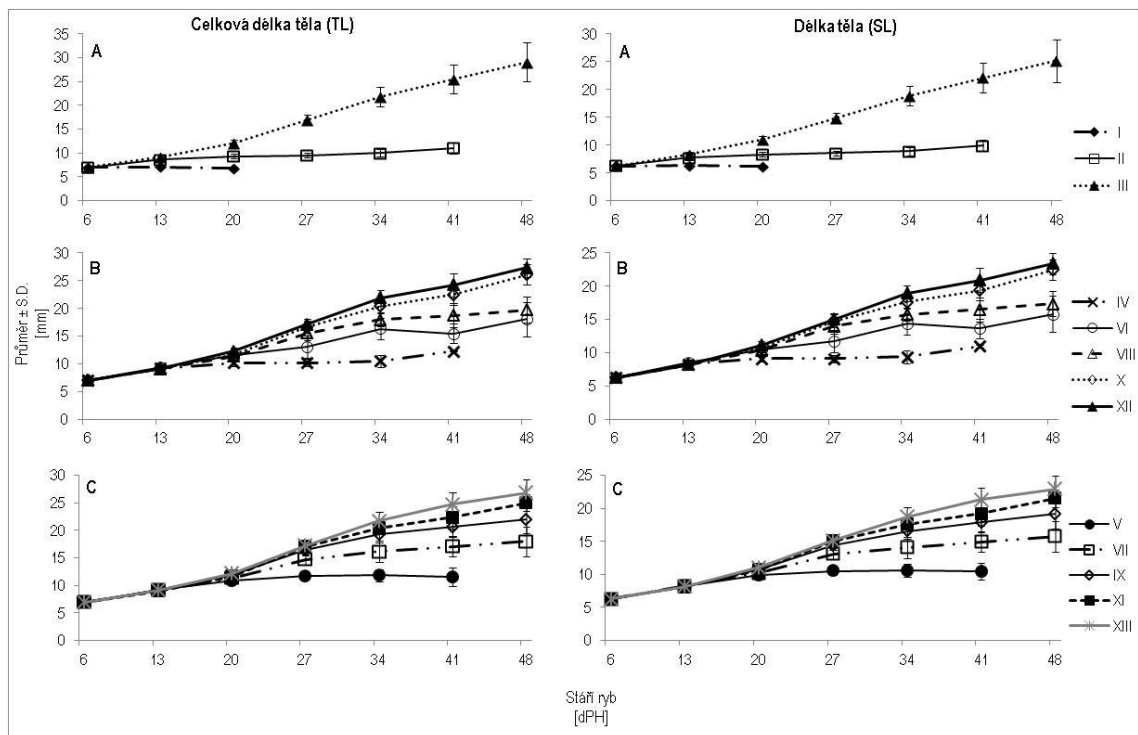
\*\* Poslední stanovení morfometrických parametrů proběhlo ve věku 41 dPH, hodnocení v následujícím intervalu se jedinci v experimentální skupině nedožily.

\*\*\* Výška myomer (MH) byla naposledy měřena ve věku 27 dPH (skupina III a VIII – XIII), ve věku 34 dPH (skupina VII) a ve věku 41 dPH (skupina II a IV – VI).

Výsledky Tukeyho HSD testu odhalily statisticky průkazné ( $P = 0,01$ ) rozdíly v morfometrických parametrech (TL, SL, preAn, postAn, BD, MH) mezi jednotlivými skupinami v dílčích časových intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH). Mezi nejvýznamnější výsledky patří následující zjištění. Ve skupině I (hladová kontrola) nebyl v intervalu 6 – 20 dPH zaznamenán růst (žádný z morfometrických parametrů se nezvyšoval). Tato skupina se svým trendem růstu prokazatelně ( $P = 0,01$ ) odlišovala od ostatních skupin (viz také Příloha č. 10). Nepatrné známky růstu byly zaznamenány ve skupině II (negativní kontrola) v intervalu 6 – 41 dPH. Ve stáří 41 dPH nebyl nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl mezi skupinami II (negativní kontrola), IV a V (zahájení co-feedingu 7 a 13 dPH) v žádném ze sledovaných morfometrických

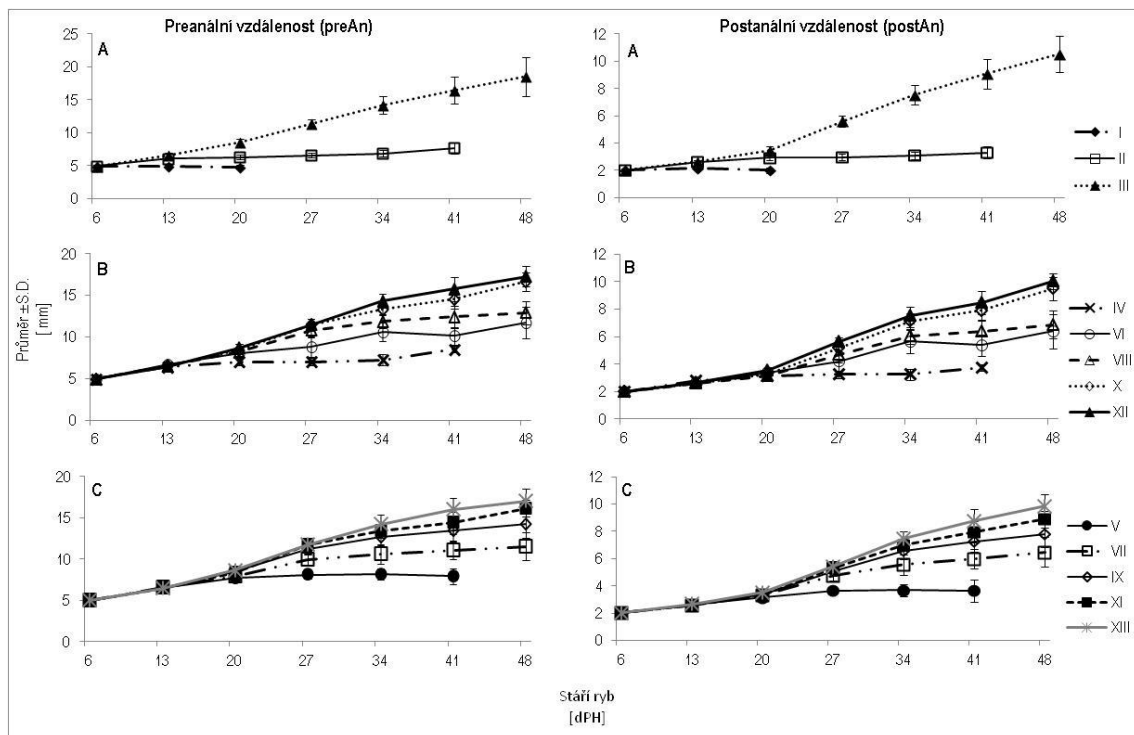
parametrů. V rámci negativní kontroly a skupiny IV byl tento trend zaznamenán od stáří 27 dPH.

Ve věku 48 dPH (konec experimentu) dosahovali největší velikosti (v rámci všech sledovaných morfometrických ukazatelů) jedinci ve skupině III (pozitivní kontrola). Nicméně v parametrech celková délka těla (TL), preanální a postanální vzdálenost (preAn a postAn) nebyl mezi skupinami III (pozitivní kontrola), XII a XIII (zahájení co-feedingu 27 a 33 dPH) nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl na konci pokusu. Skupiny XII a XIII společně se skupinami X a XI (zahájení cofeedingu 22 a 28 dPH) se na konci pokusu mezi sebou také prokazatelně nelišily ( $P = 0,01$ ) a dosahovaly srovnatelně vysokých hodnot s pozitivní kontrolou (skupina III) ve všech sledovaných morfometrických parametrech v průběhu celého pokusu (6 – 48 dPH). Naopak růst ve skupinách VI, VII a VIII (zahájení co-feedingu 12, 18 a 17 dPH) byl v průběhu pokusu (6 – 48 dPH) pomalejší. Na konci pokusu (48 dPH) dosahovaly tyto skupiny nejnižší velikosti v rámci všech morfometrických parametrů. Skupiny VI, VII a VIII se na konci pokusu statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) lišily od skupin X, XI, XII, XIII a III (pozitivní kontrola), ale mezi sebou nikoliv. Průměrné hodnoty jednotlivých morfometrických parametrů dosažené na konci pokusu zachycuje obrázek č. 8 - 12.



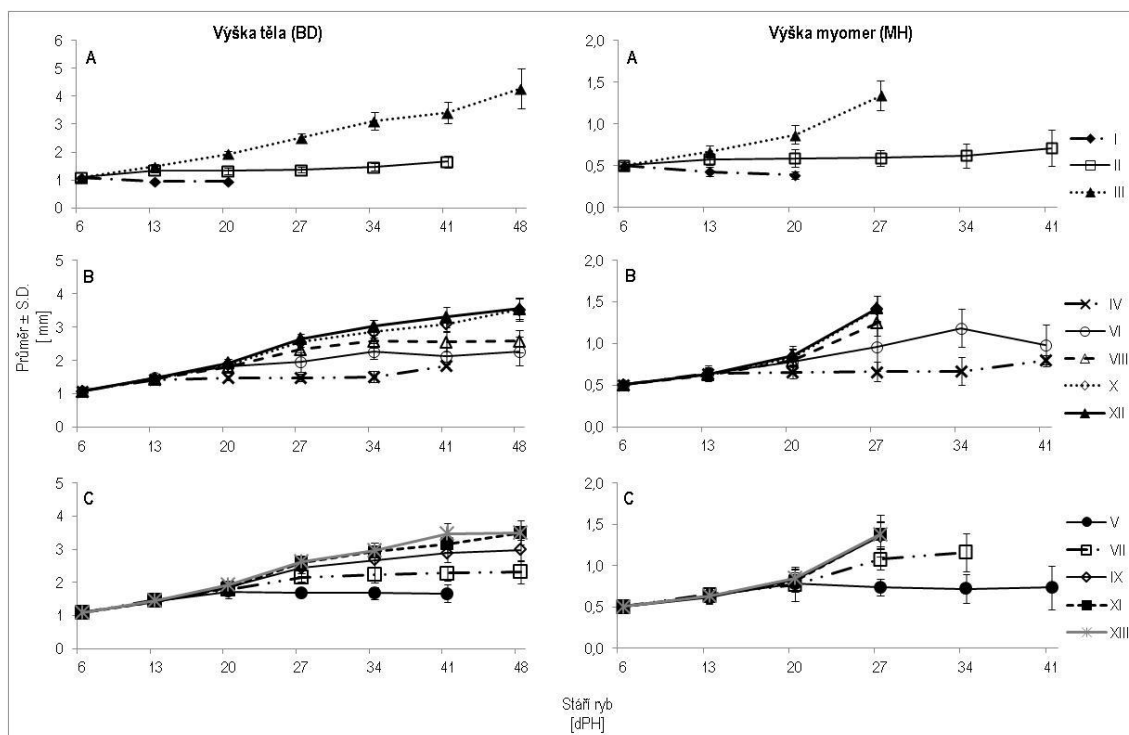
Obrázek č. 5: Celková délka těla - TL a délka těla - SL (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v čase (interval mezi pozorováními: 7 dní) pro jednotlivé skupiny během celého pokusu (6 – 48 dPH).

A – kontrolní skupiny (skupina I, II a III); B – experimentální skupiny se 7-denní délkou co-feedingu (skupiny IV, VI, VIII, X a XII); C – experimentální skupiny s 1-denní délkou co-feedingu (skupiny V, VII, IX, XI a XIII).



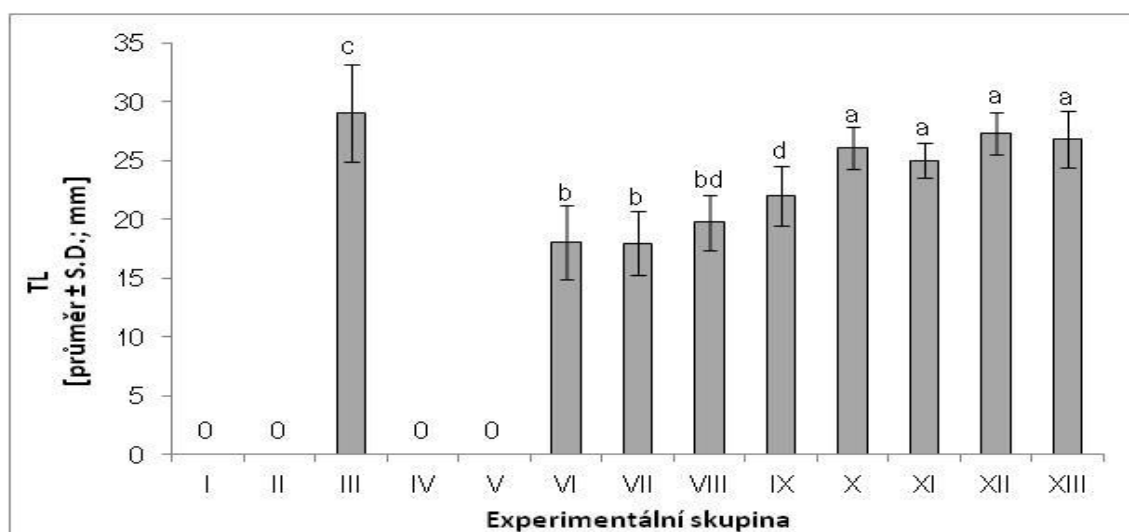
Obrázek č. 6: Preanální vzdálenost – preAn a postanální vzdálenost - postAn (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v čase (interval mezi pozorováními: 7 dní) pro jednotlivé skupiny během celého pokusu (6 – 48 dPH).

A – kontrolní skupiny (skupina I, II a III); B – experimentální skupiny se 7-denní délkou co-feedingu (skupiny IV, VI, VIII, X a XII); C – experimentální skupiny s 1-denní délkou co-feedingu (skupiny V, VII, IX, XI a XIII).

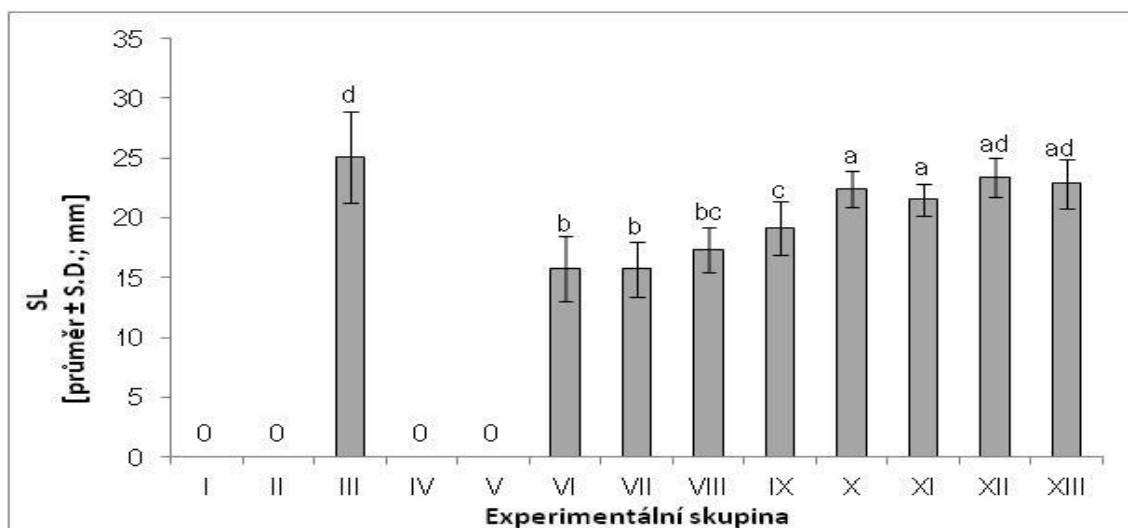


Obrázek č. 7: Výška těla - BD a výška myomer - MH (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v čase (interval mezi pozorováními: 7 dní) pro jednotlivé skupiny během celého pokusu (6 – 48 dPH).

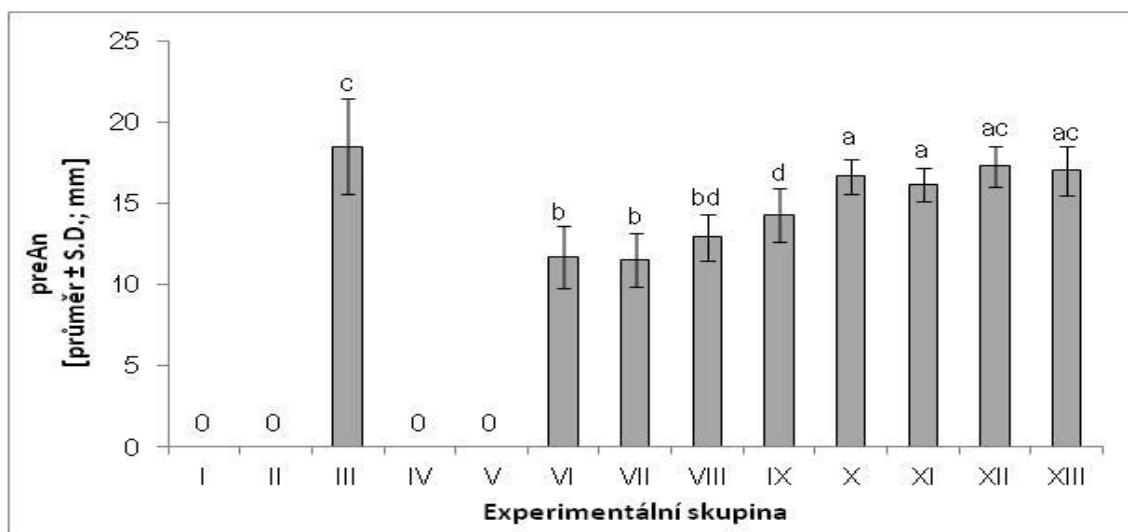
A – kontrolní skupiny (skupina I, II a III); B – experimentální skupiny se 7-denní délkou co-feedingu (skupiny IV, VI, VIII, X a XII); C – experimentální skupiny s 1-denní délkou co-feedingu (skupiny V, VII, IX, XI a XIII).



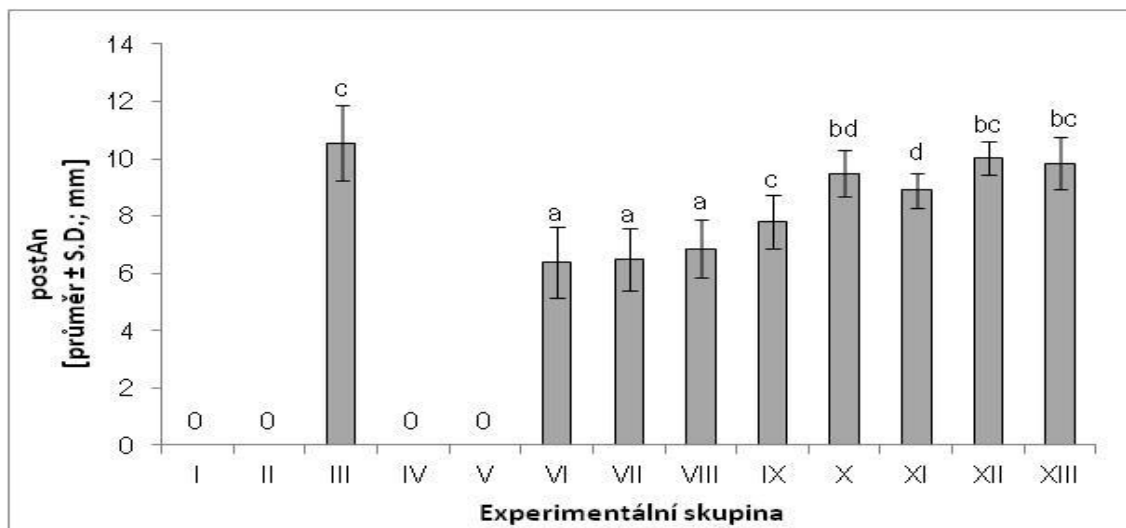
Obrázek č. 8: Celková délka těla (TL; průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.



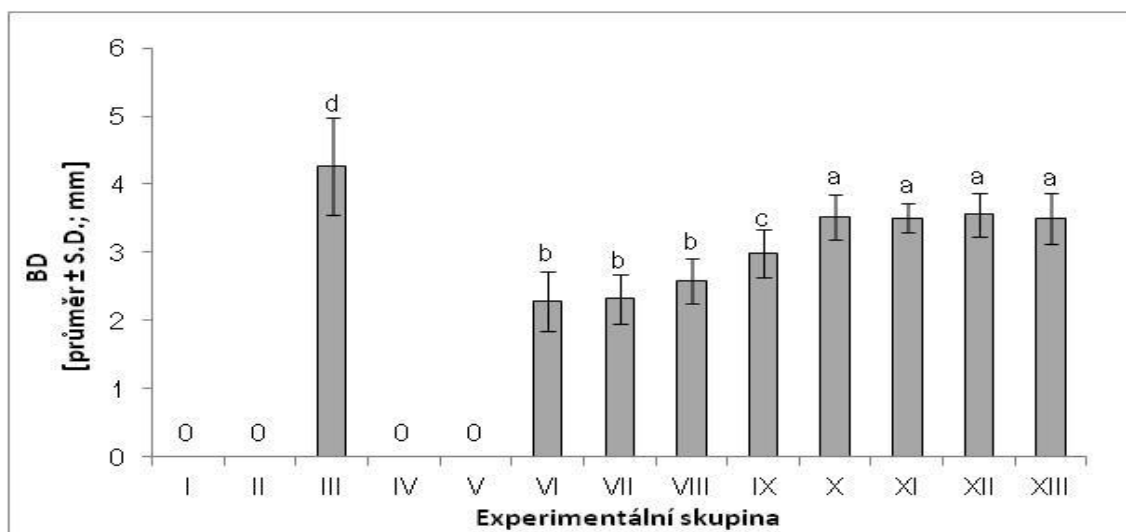
Obrázek č. 9: Délka těla (SL; průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhoaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.



Obrázek č. 10: Preanální vzdálenost (preAn; průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhoaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.



Obrázek č. 11: Postanální vzdálenost (postAn; průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.



Obrázek č. 12: Výška těla (BD; průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.

#### 5.4.2 Gravimetrické parametry

Průběh gravimetrických parametrů (mokrý hmotnost - WW, suchá hmotnost - DW) larev a juvenilů piskoře pruhovaného v čase v jednotlivých skupinách v časovém intervalu 6 – 48 dPH znázorňuje obrázek č. 13. Mezi experimentálními skupinami byl nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v mokré i suché hmotnosti od stáří



13 dPH. Tento trend trval až do konce pokusu (Tabulka č. 9), konkrétní hodnoty gravimetrických parametrů na konci experimentu jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka č. 9: Výsledky jednocestné analýzy variace (jednocestná ANOVA) gravimetrických parametrů (mokrý hmotnost - WW, suchá hmotnost - DW) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v rámci experimentálních skupin v dílčích časových intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH).

dPH	Jednocestná ANOVA	
	Mokrý hmotnost (WW)	Suchá hmotnost (DW)
13	F (12, 104) = 33,607, P = 0,01	F (12, 38) = 26,848, P = 0,01
20	F (12, 98) = 91,379, P = 0,01	F (12, 37) = 63,485, P = 0,01
27	F (11, 138) = 220,39, P = 0,01	F (11, 71) = 90,819, P = 0,01
34	F (11, 137) = 234,63, P = 0,01	F (11, 71) = 133,58, P = 0,01
41	F (11, 128) = 159,75, P = 0,01	F (11, 72) = 82,891, P = 0,01
48	F (8, 348) = 34,951, P = 0,01	F (8, 77) = 109,24, P = 0,01

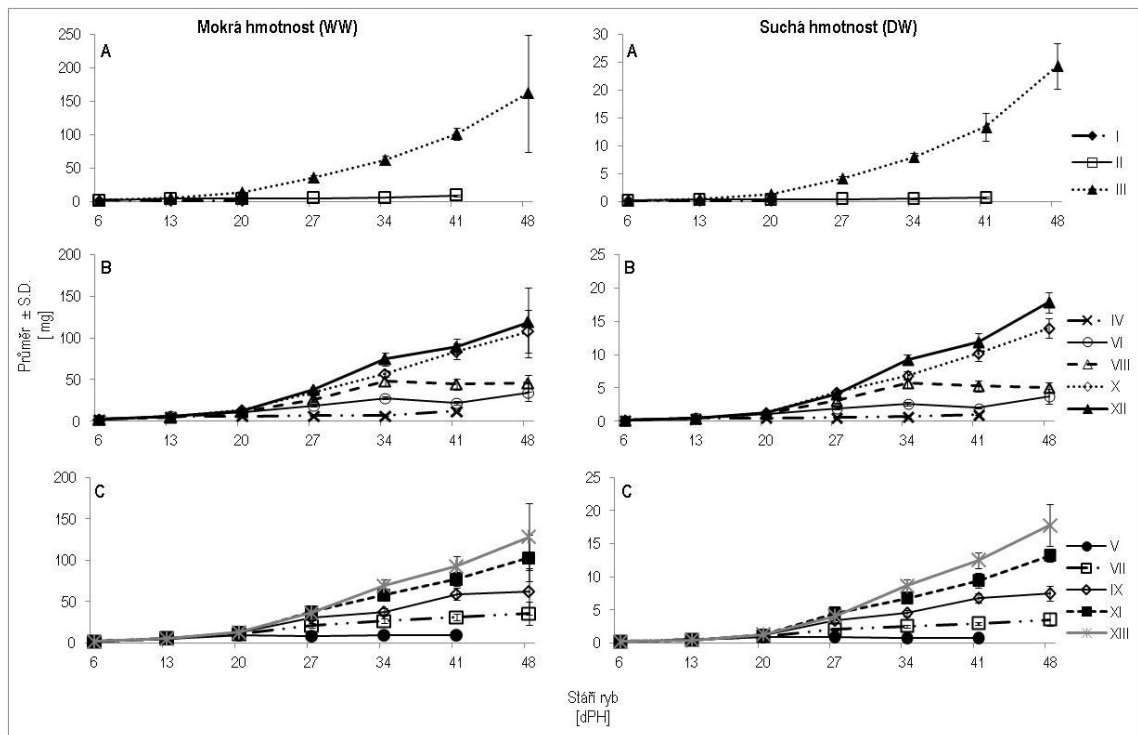
Statisticky průkazné ( $P = 0,01$ ) rozdíly v obou sledovaných gravimetrických parametrech (WW, DW) mezi jednotlivými experimentálními skupinami v dílčích 7-denních intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH) byly odhaleny pomocí Tukeyho HSD testu (Obrázky č. 14 a 15). Mezi nejvýznamnější výsledky patří tato zjištění. V případě mokré i suché hmotnosti ve skupině I (hladová kontrola) byl zaznamenán sestupný trend v intervalu 6 - 20 dPH. Ve věku 20 dPH dosahovaly larvy v hladové kontrole mokré hmotnosti (WW)  $1,25 \pm 0,24$  mg a suché hmotnosti (DW)  $0,11 \pm 0,01$  mg. V ostatních experimentálních skupinách (sk. II – XIII) byl zaznamenán opačný trend, tzn., došlo k nárůstu suché i mokré hmotnosti v průběhu pokusu, avšak intenzita růstu byla různá. Velmi pomalý růst (WW a DW) byl zaznamenán ve skupinách II (negativní kontrola), IV a V (zahájení co-feedingu ve stáří 7, respektive 13 dPH), mezi kterými nebyl v intervalu 27 – 41 dPH nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v hodnotách suché i mokré hmotnosti.

Naopak k intenzivnímu růstu hmotnosti (WW a DW) došlo ve skupině III (pozitivní kontrola) od 6 do 48 dPH (konec pokusu). Mezi pozitivní kontrolou a skupinami X, XI, XII a XIII (zahájení co-feedingu 22, 28, 27 a 33 dPH) nebyl v intervalu 13 – 27 dPH nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v hodnotách mokré a suché hmotnosti (WW a DW).

V rámci mokré hmotnosti (WW) stanovené na konci pokusu (48 dPH) nebyl objeven průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl mezi skupinami VI, VII, VIII a IX (zahájení co-feedingu ve stáří 12, 18, 17, respektive 23 dPH), které s hodnotami mokré hmotnosti

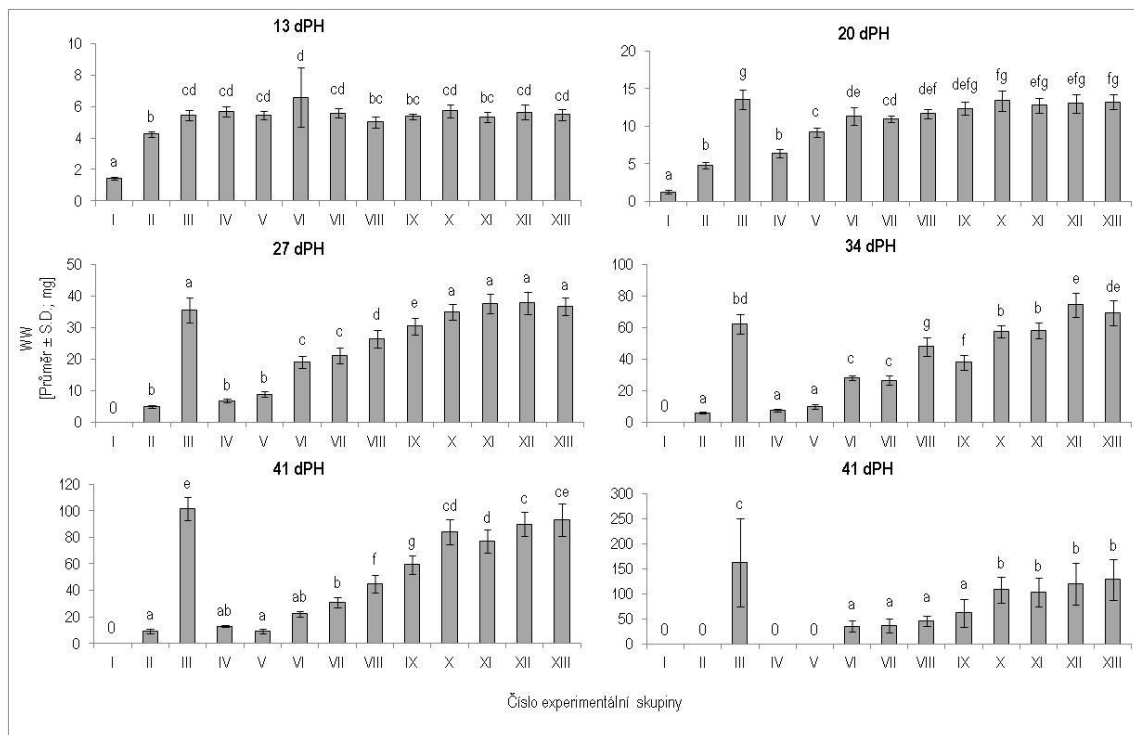
pohybujícími v rozmezí  $34,77 \pm 10,94$  (sk. VI) až  $61,87 \pm 28,15$  (sk. IX) mg, dosahovaly menší velikosti. Statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) vyšší mokré hmotnosti dosahovaly na konci pokusu skupiny X, XI, XII a XIII. Mokrý hmotnost se pohybovala v rozmezí od  $102,74 \pm 25,37$  (sk. XI) do  $128,13 \pm 40,35$  (sk. XIII) mg. Tyto skupiny se však mezi sebou navzájem statisticky průkazně nelišily. Nejvyšší konečné mokré hmotnosti dosáhla skupiny III (pozitivní kontrola).

V případě suché hmotnosti (DW) na konci pokusu (stáří 48 dPH) došlo k vytvoření čtyřech párů (sk. VI + VII x VIII + IX x X + XI x XII + XIII), které se od sebe statisticky průkazně lišily ( $P = 0,01$ ), avšak mezi sebou v páru navzájem nikoliv. Nejvyšší suché hmotnosti ( $24,32 \pm 4,05$  mg) dosáhla na konci pokusu skupina III (pozitivní kontrola), která se od všech ostatních skupin statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) lišila.

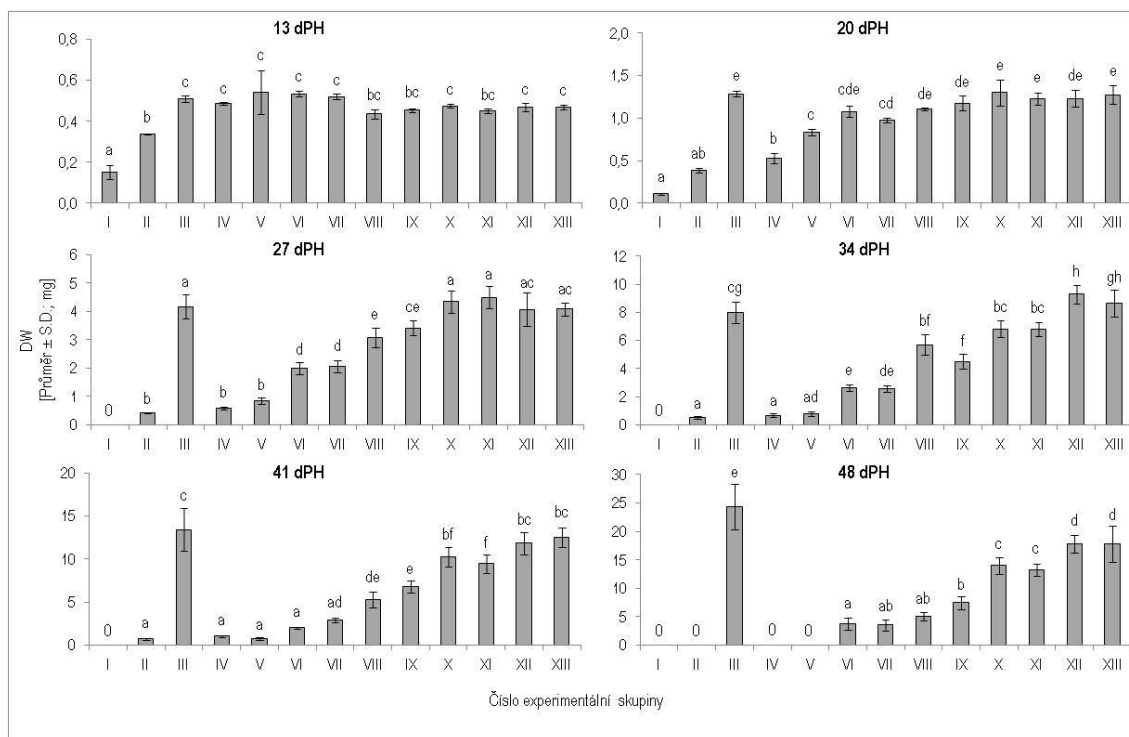


Obrázek č. 13: Mokrý hmotnost - WW a suchá hmotnost - DW (průměr  $\pm$  S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhošaného (*Misgurnus fossilis*) v čase (interval mezi pozorováními: 7 dní) pro jednotlivé skupiny během celého pokusu (6 – 48 dPH).

A – kontrolní skupiny (skupina I, II a III); B – experimentální skupiny se 7-denní délkou co-feedingu (skupiny IV, VI, VIII, X a XII); C – experimentální skupiny s 1-denní délkou co-feedingu (skupiny V, VII, IX, XI a XIII).



Obrázek č. 14: Průměrná mokrá hmotnost (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách v dílčích 7-denních intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe v daném intervalu statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.



Obrázek č. 15: Průměrná suchá hmotnost (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách v dílčích 7-denních intervalech (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe v daném intervalu statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.

Tabulka č. 10: Mokrá a suchá hmotnost (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci pokusu (48 dPH).

I – hladová kontrola po celou dobu pokusu nebyla krmena, II – negativní kontrola krmena startérovým krmivem, III – pozitivní kontrola krmená dekapsulovanými cystami žábronožek, IV až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

Experimentální skupina	Gravimetrické parametry [průměr ± S.D.; mg]	
	Mokrá hmotnost (WW)	Suchá hmotnost (DW)
I *	1,3 ± 0,2	0,11 ± 0,01
II **	9,2 ± 1,7	0,71 ± 0,14
III	162,3 ± 87,5	24,32 ± 4,05
IV **	12,9 ± 0,6	1,02 ± 0,14
V **	9,1 ± 1,5	0,74 ± 0,12
VI	34,8 ± 10,9	3,76 ± 1,09
VII	35,7 ± 13,7	3,56 ± 0,95
VIII	45,6 ± 9,9	5,04 ± 0,77
IX	61,9 ± 28,1	7,47 ± 1,11
X	107,8 ± 25,4	14,00 ± 1,48
XI	102,7 ± 28,6	13,24 ± 1,02
XII	119,0 ± 41,8	17,81 ± 1,50
XIII	128,1 ± 40,3	17,78 ± 3,18

\* Poslední stanovení morfometrických parametrů proběhlo ve věku 20 dPH, hodnocení v následujícím intervalu se jedinci v experimentální skupině nedožily.

\*\* Poslední stanovení morfometrických parametrů proběhlo ve věku 41 dPH, hodnocení v následujícím intervalu se jedinci v experimentální skupině nedožily.

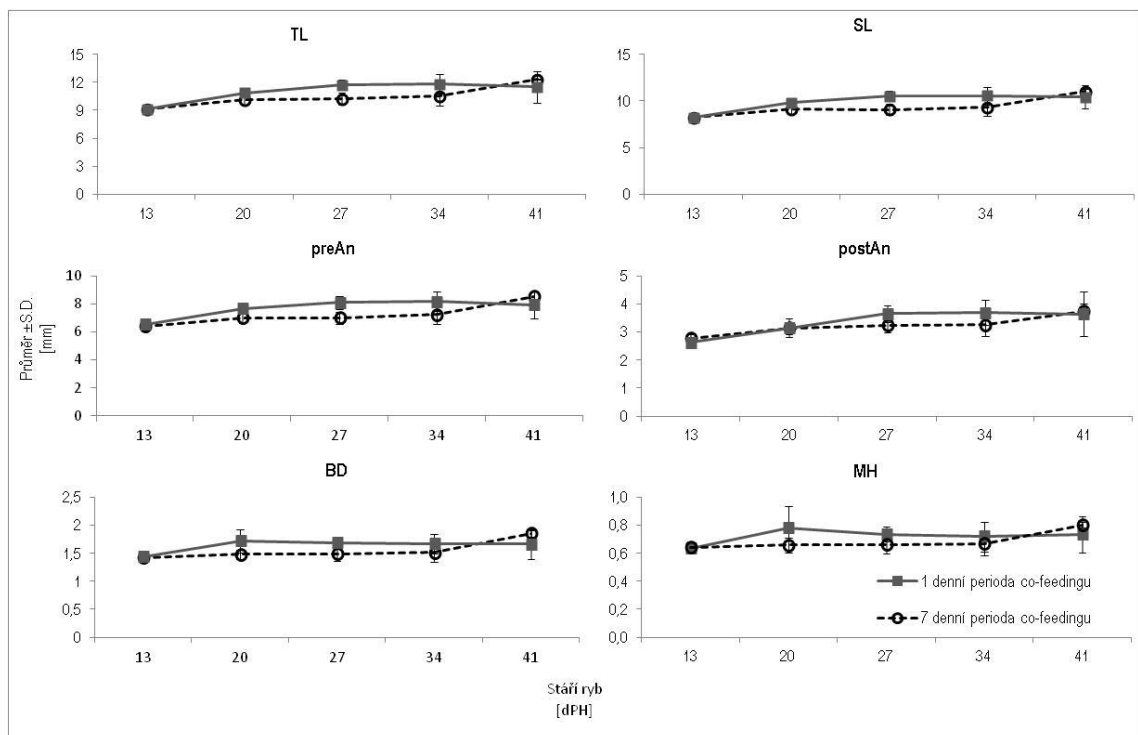
## 5.5 Vliv délky periody co-feedingu na růst

### 5.5.1 Morfometrické parametry

Výsledky dvouvýběrového T-testu odhalily statisticky průkazné ( $P = 0,01$ ) rozdíly ve sledovaných morfometrických parametrech (TL, SL, preAn, postAn, BD a MH) v následujících dvojicích skupin, tj. skupin se shodným termínem ukončení co-feedingu (13, 18, 23, 28, 33 dPH), avšak lišících se délkou periody co-feedingu (1 a 7 dní).

V případě dvojice sk. IV a V (ukončení co-feedingu 13 dPH) dosahovala celková délka těla (TL), délka těla (SL), preanální vzdálenost (preAn), výška těla (BD), statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) vyšších hodnot skupina V (délka periody co-feedingu 1 den) v intervalu 20 – 34 dPH. V případě postanální vzdálenosti (postAn) a výšky myomer (MH) byl tento trend pozorován v intervalu 27 – 34 dPH (platí pro postAn) a 20 – 27 dPH (platí pro MH). Celkově v těchto skupinách byla zaznamenána jen velmi

slabá intenzita růstu (Obrázek č. 16). Ve stáří 41 dPH (sk. IV a V se konce pokusu nedožily) jsou zjištěné zvýšené hodnoty všech morfometrických parametrů ve skupině IV (oproti sk. V) pravděpodobně artefaktem (viz Obrázek č. 16), který vznikl v důsledku použití pro morfometrická měření pouhých dvou (posledních přežívajících) larev. Proto nárůst jednotlivých morfometrických parametrů v tomto věku nelze brát jako adekvátní projev zvoleného krmného režimu ve skupině IV. Pravděpodobně by měla skupina IV dosáhnout mezi všemi přežívajícími skupinami nejnižších zjištěných hodnot.

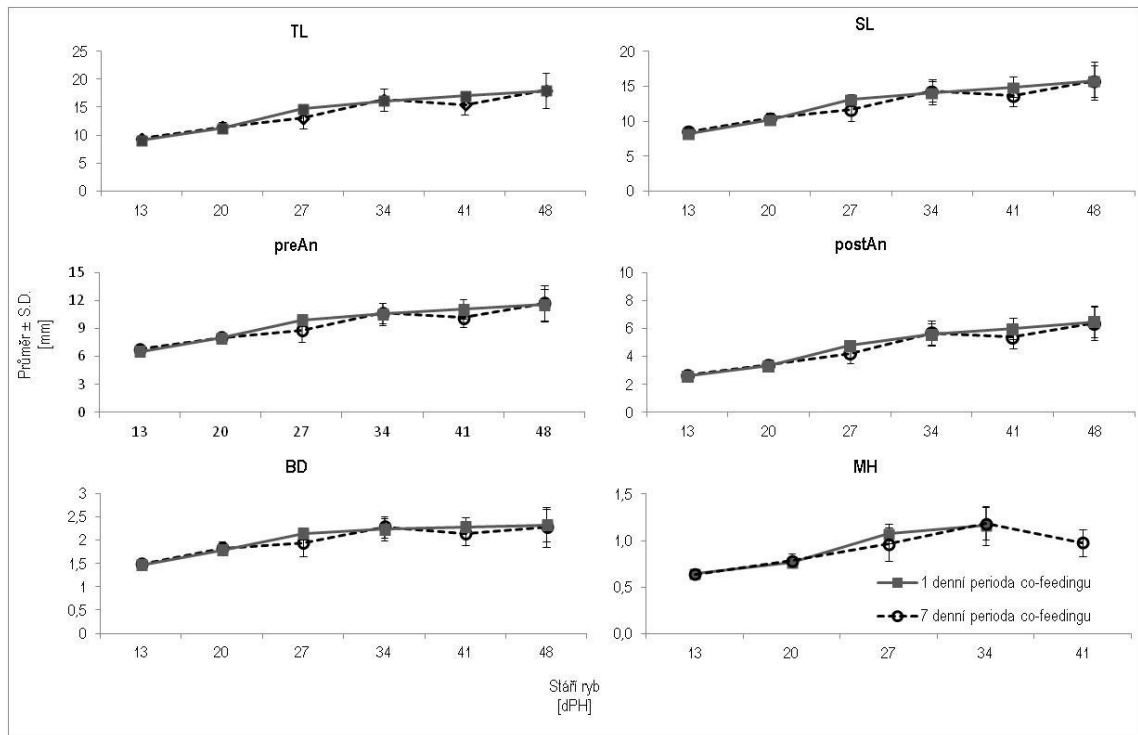


Obrázek č. 16: Porovnání morfometrických parametrů (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v dílčích 7-denních intervalech mezi skupinami IV (délka periody co-feedingu 7 dní) a V (délka periody co-feedingu 1 den) se shodným termínem ukončení co-feedingu ve věku 13 dPH.

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

U dvojice skupin VI a VII (ukončení co-feedingu ve věku 18 dPH) byly statisticky průkazné ( $P = 0,01$ ) rozdíly nalezeny ve stáří 13 dPH (parametry: TL, SL, preAn), 27 dPH (všechny sledované morfometrické parametry) a ve věku 41 dPH (parametry: TL, SL, preAn, postAn). Ve stáří 13 dPH dosahovala vyšších hodnot skupina IV (délka periody co-feedingu 7 dní), ale ve věku 27 a 41 dPH byl tento trend opačný. Na konci

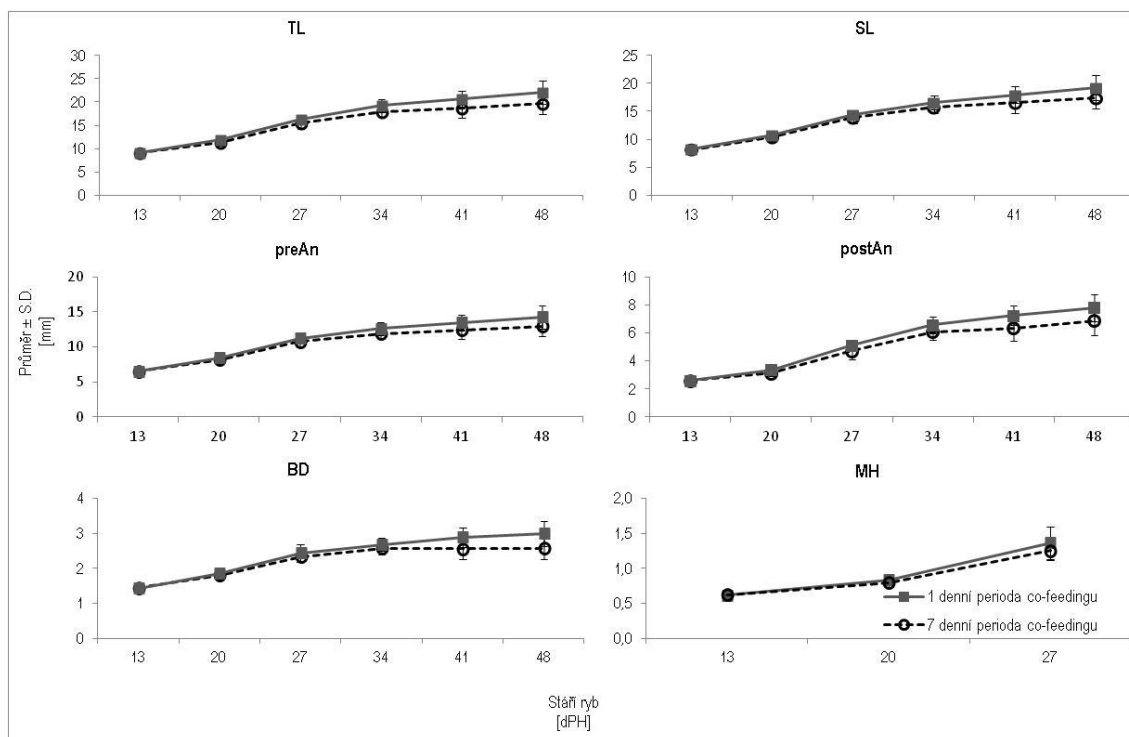
pokusu (48 dPH) nebyl nalezen pro žádný sledovaný morfometrický ukazatel statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl mezi skupinami VI a VII (Obrázek č. 17).



Obrázek č. 17: Porovnání morfometrických parametrů (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v dílčích 7-denních intervalech mezi skupinami VI (délka periody co-feedingu 7 dní) a VII (délka periody co-feedingu 1 den) se shodným termínem ukončení co-feedingu ve věku 18 dPH.

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

V rámci skupin s ukončením co-feedingu ve věku 23 dPH dosahovala skupina VIII (délka periody co-feedingu 7 dní) statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) nižších hodnot ve všech sledovaných morfometrických parametrech ve srovnání se skupinou IX (délka periody co-feedingu 1 den) v intervalu 34 – 48 dPH. Tento trend byl pozorován u celkové délky těla (TL), délky těla (SL) a preanální vzdálenosti (preAn) již dříve, a to od stáří 20 dPH (Obrázek č. 18).

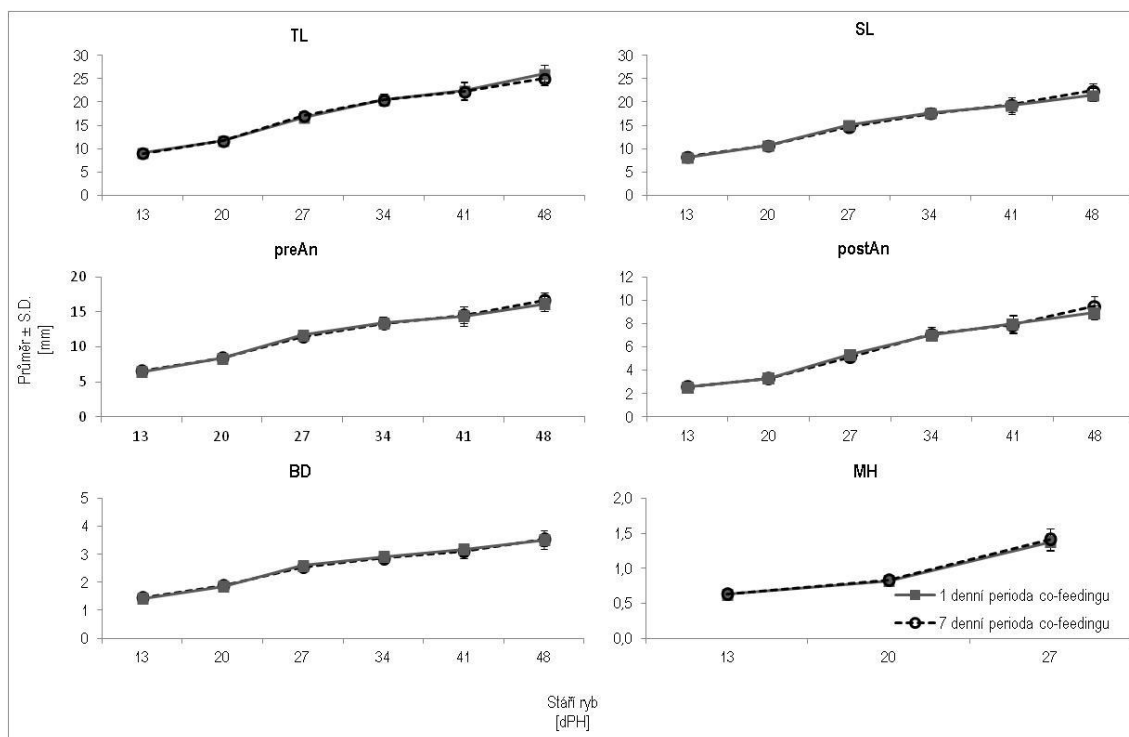


Obrázek č. 18: Porovnání morfometrických parametrů (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v dílčích 7-denních intervalech mezi skupinami VIII (délka periody co-feedingu 7 dní) a IX (délka periody co-feedingu 1 den) se shodným termínem ukončení co-feedingu ve věku 23 dPH.

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

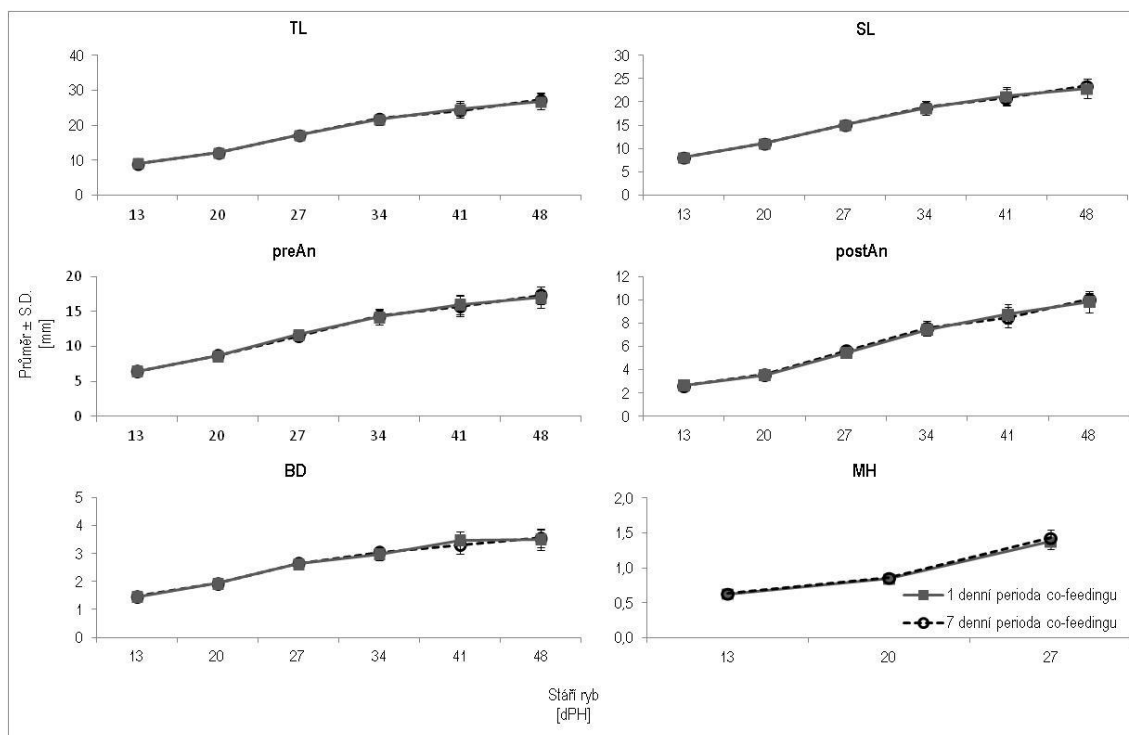
Pro dvojice, u kterých došlo k ukončení co-feedingu ve věku 28 dPH (sk. X a XI), respektive 33 dPH (sk. XII a XIII), nebyl nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v žádném sledovaném morfometrickém parametru z hlediska aplikace periody co-feedingu v délce jednoho či sedmi dní (Obrázky č. 19 a 20). Jedinou výjimku z tohoto pravidla tvořila výška těla (BD) na konci pokusu (stáří: 48 dPH), která byla statisticky prokazatelně vyšší ve skupině X (délka periody co-feedingu 7 dní), ve srovnání se skupinou XI (délka periody co-feedingu 1 den).





Obrázek č. 19: Porovnání morfometrických parametrů (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v dílčích 7-denních intervalech mezi skupinami X (délka periody co-feedingu 7 dní) a XI (délka periody co-feedingu 1 den) se shodným termínem ukončení co-feedingu ve věku 28 dPH.

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer



Obrázek č. 20: Porovnání morfometrických parametrů (průměr ± S.D.) larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v dílčích 7-denních intervalech mezi skupinami XII (délka periody co-feedingu 7 dní) a XIII (délka periody co-feedingu 1 den) se shodným termínem ukončení co-feedingu ve věku 33 dPH.

TL – celková délka těla, SL – délka těla, preAn – preanální vzdálenost, postAn – postanální vzdálenost, BD – výška těla, MH – výška myomer

### 5.5.2 Gravimetrické parametry

Rozdíly ve sledovaných gravimetrických parametrech, tj. mokré (WW) a suché (DW) hmotnosti, vlivem použité rozdílné délky periody co-feedingu (1 a 7 dní), byly odhaleny pomocí dvouvýběrového T-testu v dílčích časových úsecích (13, 20, 27, 34, 41, 48 dPH) mezi následujícími skupinami se shodným termínem ukončení co-feedingu (13, 18, 23, 28 a 33 dPH).

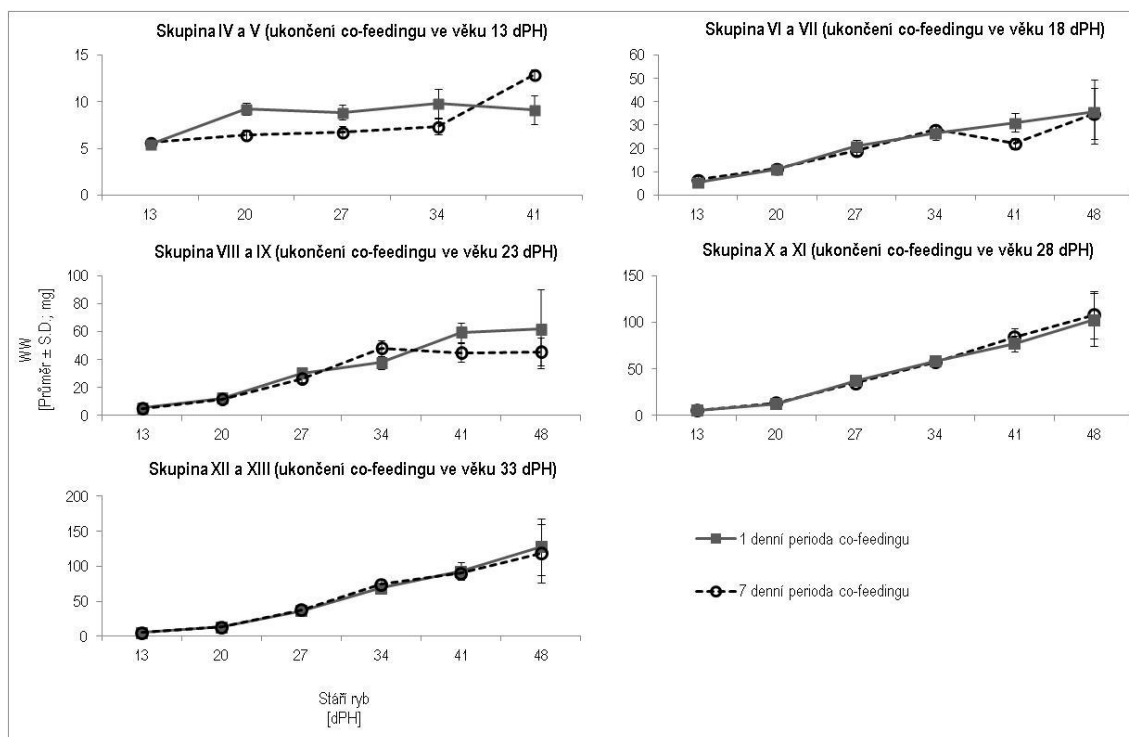
Při ukončení co-feedingu ve věku 13 dPH dosahovala skupina V (délka periody co-feedingu 1 den) statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) vyšší hodnoty mokré hmotnosti (WW) v intervalu 20 – 34 dPH, ve srovnání se skupinou IV (délka periody co-feedingu 7 dní) (Obrázek č. 21). Stejný trend byl pozorován i v případě suché hmotnosti (DW), avšak statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) se lišily hodnoty jen ve stáří 20 dPH (Obrázek č. 22). Podobně jako v případě morfometrických parametrů, mokrá i suchá hmotnost stanovená ve skupině IV ve věku 41 dPH vychází z hodnot naměřených u pouhých dvou

(posledních žijících) larev, proto srovnání těchto hodnot se skupinou V nelze brát jako adekvátní (vysvětlení viz výše).

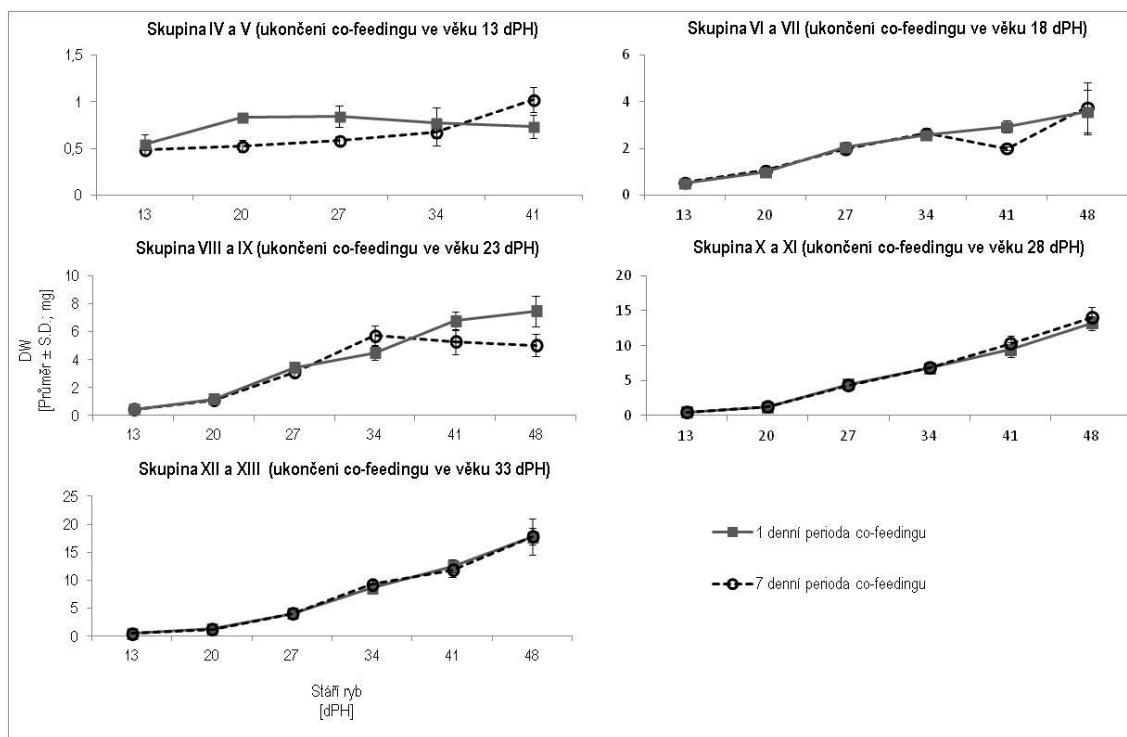
Ve dvojici skupin VI a VII (ukončení co-feedingu ve věku 18 dPH) dosahovala skupina VII (délka periody co-feedingu 1 den) statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) vyšších hodnot mokré i suché hmotnosti pouze ve věku 41 dPH (Obrázky č. 21 a 22). Toto lze však brát jako artefakt, neboť v ostatních dílčích časových úsecích (a to až do konce pokusu – 48 dPH) nebyl nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v gravimetrických parametrech a skupiny VI a VII se tedy svými hodnotami nelišily.

Mezi skupinami VIII a IX (ukončení co-feedingu ve věku 23 dPH) byl nalezen průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v hmotnosti larev/juvenilů v intervalu 27 – 48 dPH (WW), respektive 34 – 48 dPH (DW). Trend u WW i DW byl shodný. Ve věku 27, 41 a 48 dPH (konec pokusu) dosahovala vyšších hodnot skupina IX (délka periody co-feedingu 1 den) ve srovnání se skupinou X (délka periody co-feedingu 7 dní). Ve stáří 34 dPH byl tento trend opačný.

U skupin, u nichž došlo k ukončení co-feedingu ve stáří 28 dPH (sk. X a XI) a 33 dPH (sk. XII a XIII), nebyl nalezen statisticky průkazný ( $P = 0,01$ ) rozdíl v závislosti na délce periody co-feedingu (1 či 7 dní) ani u jednoho sledovaného gravimetrického parametru (WW, DW) a to v žádném dílčím intervalu, včetně konce pokusu (stáří 48 dPH).



Obrázek č. 21: Porovnání mokré hmotnosti (WW; průměr ± S.D.) ) mezi dvojicemi experimentálních skupin lišících se v délce periody co-feedingu (1 a 7 dní co-feedingu) v jednotlivých dílčích 7-denních intervalech u larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*).

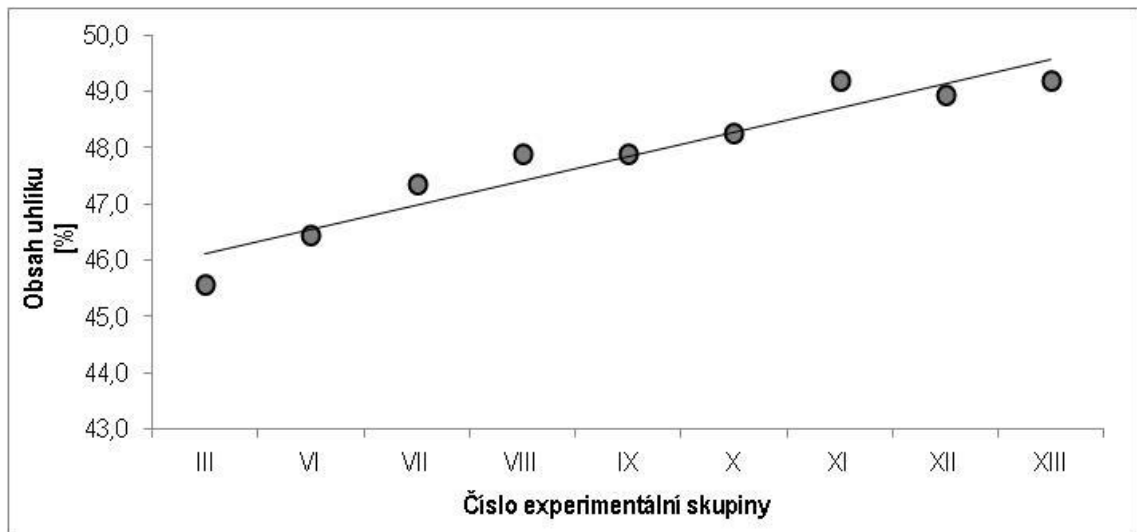


Obrázek č. 22: Porovnání suché hmotnosti (DW; průměr  $\pm$  S.D.) mezi dvojicemi experimentálních skupin lišících se v délce periody co-feedingu (1 a 7 dní co-feedingu) v jednotlivých dílčích 7-denních intervalech u larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*).

## 5.6 Prvkové složení

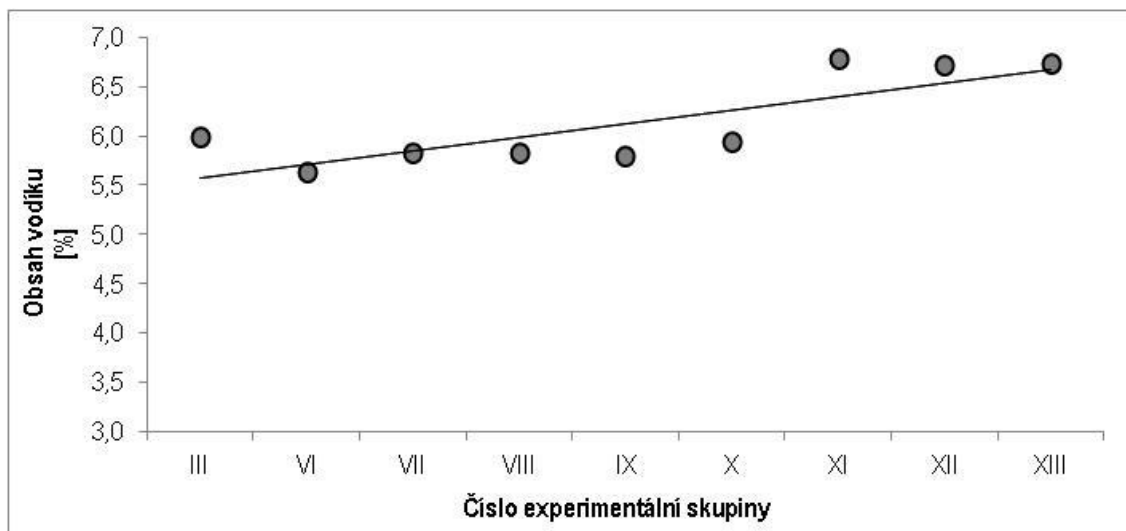
Analyzované biogenní prvky v neoplozených ovulovaných jikrách piskoře pruhovaného dosahovaly následujících průměrných hodnot: uhlík (C) – 54,04 %; vodík (H) – 6,38 %; dusík (N) – 10,23 %; síra (S) – 0,53 %; celková suma všech prvků bez kyslíku – 71,17 %. Výsledky analýz prvkového složení tělních tkání larev/juvenilů na konci experimentu (48 dPH) jsou znázorněny pro jednotlivé prvky v obrázcích č. 23 až 27. Nejnižší obsah C (45,54 %) a N (9,93 %) byl nalezen na konci experimentu (48 dPH) v pozitivní kontrole (sk. III). Ostatní kontrolní skupiny (I, II), stejně jako skupiny IV, V (konec co-feedingu 13 dPH), konce experimentu nedožily, proto nebyly analyzovány. V rámci experimentálních skupin, u nichž byl využit co-feeding a dožily se konce pokusu (VI až XIII), lze pro obsah C a N vysledovat pozitivní závislost v čase, tj. jejich obsah stoupal s prodlužující se dobou zahájení co-feedingu (Obrázek č. 23 a 25). Zcela opačný trend, negativní závislost v čase, vykazoval obsah S, který klesal s prodlužující se délkou zahájení co-feedingu v jednotlivých skupinách (Obrázek č. 26). Nicméně obsah S dosahoval u všech skupin samotného prahu stanovitelnosti tohoto

prvku (obsah do 0,5 %), proto z trendu obsahu tohoto prvku mezi skupinami nelze vyvozovat nějaký významný závěr a nebude s ním více pracováno v kapitole Diskuze. Obsah H nevykazoval žádnou závislost v čase, jak je patrné z obrázku č. 24 (hodnota oscilovala mezi skupinami kolem hodnoty 6 %). Procentuální zastoupení C a N významně ovlivnilo i celkovou sumu všech analyzovaných prvků v tělech larev/juvenilů (Obrázek č. 27), které takjevilo podobnou, pozitivní, závislost v čase (zvyšující se hodnota s prodlužující se dobou nástupu co-feedingu) jako C a N.



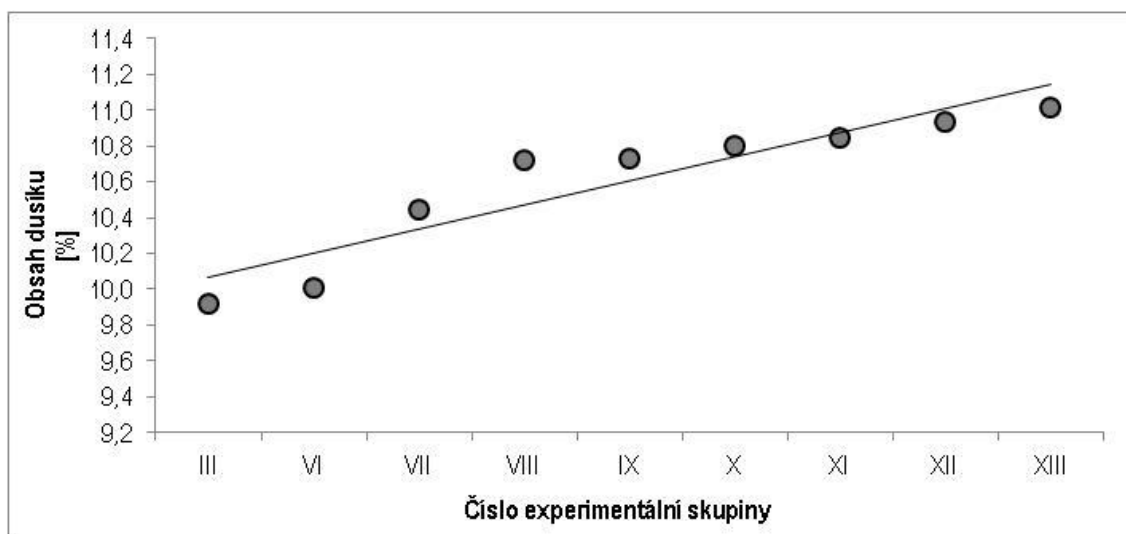
Obrázek č. 23: Obsah uhlíku v somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci experimentu (48 dPH). Data byla proložena lineární funkcí ( $y = 0,4345x + 45,668$ ;  $R^2 = 0,9098$ ).

III – pozitivní kontrola krmená dekapulovanými cystami žábřonožek, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)



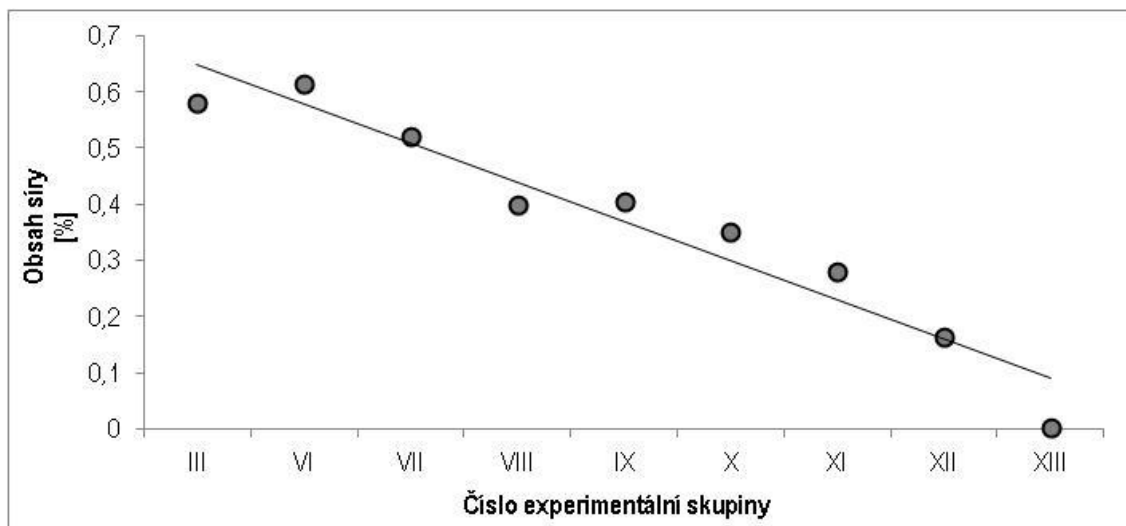
Obrázek č. 24: Obsah vodíku v somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci experimentu (48 dPH). Data byla proložena lineární funkcí ( $y = 0,1365x + 5,4431$ ;  $R^2 = 0,9311$ ).

III – pozitivní kontrola krmená dekapsovanými cystami žábřonožek, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)



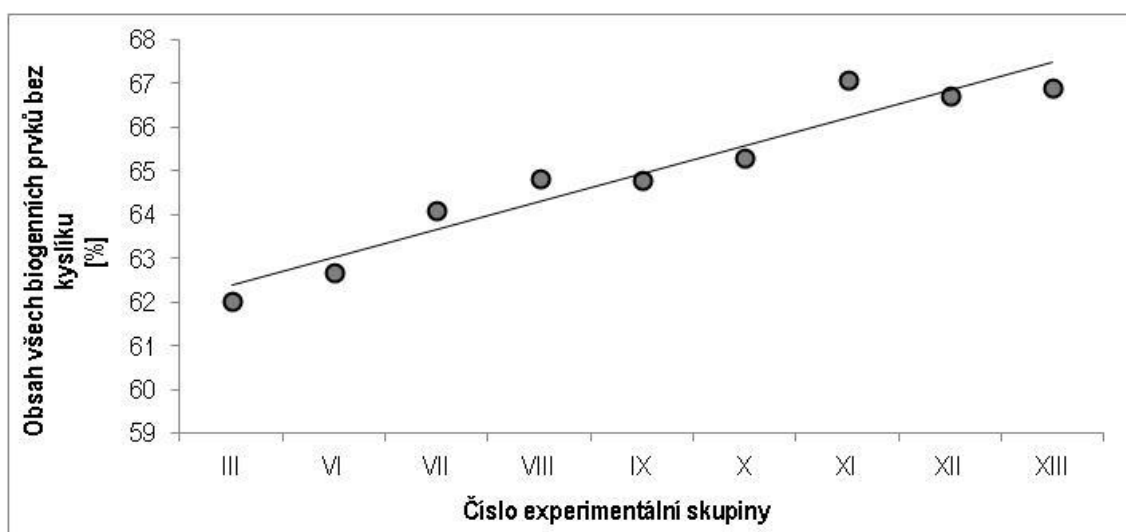
Obrázek č. 25: Obsah dusíku v somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci experimentu (48 dPH). Data byla proložena lineární funkcí ( $y = 0,1341x + 9,9331$ ;  $R^2 = 0,8634$ ).

III – pozitivní kontrola krmená dekapsovanými cystami žábřonožek, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)



Obrázek č. 26: Obsah síry v somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci experimentu (48 dPH). Data byla proložena lineární funkcí ( $y = -0,0698x + 0,7177$ ;  $R^2 = 0,9311$ ).

III – pozitivní kontrola krmená dekapulovanými cystami žábronožek, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)



Obrázek č. 27: Obsah všech biogenních prvků bez kyslíku v tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v jednotlivých experimentálních skupinách na konci experimentu (48 dPH). Data byla proložena lineární funkcí ( $y = 0,6352x + 61,763$ ;  $R^2 = 0,9275$ ).

III – pozitivní kontrola krmená dekapulovanými cystami žábronožek, VI až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)



## 5.7 Spalné teplo

Hodnoty spalného tepla [v analytickém ( $Q_s^a$ ) a bezvodém ( $Q_s^d$ ) vzorku] v jikrách, larvách při zahájení mixogenní výživy (6 dPH) a larvách/juvenilech na konci experimentu (48 dPH) jsou zachyceny v tabulce č. 11. Mezi hodnotami spalného tepla larev a juvenilů na konci pokusu (48 dPH) byly nalezeny statisticky průkazné ( $P = 0,01$ ) rozdíly jak v analytickém vzorku [ $F(6, 13) = 146,34$ ,  $P = 0,01$ ], tak v bezvodém vzorku [ $F(6, 13) = 155,92$ ,  $P = 0,01$ ]. Pro bližší odhalení rozdílů mezi jednotlivými experimentálními skupinami (skupina III a VIII – XIII) v hodnotách spalného tepla v analytickém i bezvodém vzorku byl použit Tukeyho HSD test (viz Tabulka č. 11). Vztah mezi krmným režimem a množstvím spalného tepla v somatických tkáních larev/juvenilů nalezen nebyl.

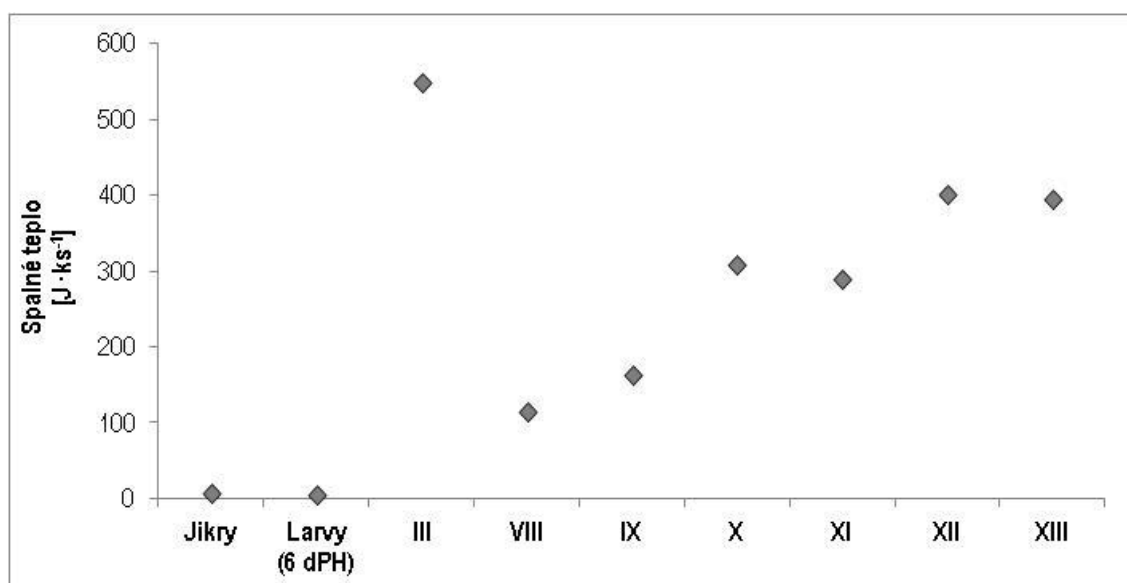
Tabulka č. 11: Spalné teplo (průměr  $\pm$  S.D.;  $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ) v neoplozených vytřených jikrách a somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po zahájení mixogenní výživy (6 dPH) a na konci experimentu (48 dPH). Experimentální skupiny se stejným indexem se od sebe v daném intervalu statisticky průkazně ( $P = 0,01$ ) neliší na základě výsledků Tukeyho HSD testu.

$Q_s^a$  – analytický vzorek,  $Q_s^d$  – bezvodý vzorek, III – pozitivní kontrola krmená dekapsulovanými cystami žábřonůžek, VIII až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)

Stádium	Spalné teplo [průměr $\pm$ S.D.; $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ]	
	Analytický vzorek ( $Q_s^a$ )	Bezvodý vzorek ( $Q_s^d$ )
Jikry	25,34 $\pm$ 0,02	25,82 $\pm$ 0,02
Larvy po nasazení (6 dPH)	22,00 $\pm$ 0,02	23,10 $\pm$ 0,02
Larvy/juvenilové na konci pokusu (48 dPH)		
Skupina III	22,21 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	22,55 $\pm$ 0,06 <sup>d</sup>
Skupina VIII	22,23 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	22,78 $\pm$ 0,03 <sup>e</sup>
Skupina IX	21,45 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	21,82 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
Skupina X	21,72 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	22,03 $\pm$ 0,03 <sup>bc</sup>
Skupina XI	21,51 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	21,90 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>
Skupina XII	22,23 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	22,55 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>
Skupina XIII	21,83 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	22,14 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>

Při přepočtu spalného tepla na jednoho jedince (jikru či larvu/juvenila) byl však u skupin, u nichž byl využit co-feeding, nalezen na konci pokusu (48 dPH) následující vztah mezi krmným režimem a množstvím spalného tepla per capita. S prodlužujícím se termínem ukončení co-feedingu stoupalo v jednotlivých skupinách

množství spalného tepla, které lze také chápat jako množství energie uložené v somatických tkáních, na jednoho jedince (viz Obrázek č. 11). Při srovnání jednotlivých dvojic, tj. skupin se shodným termínem ukončení co-feedingu lišících se však délkou co-feedingu, dosahovala u krmného režimu s ukončením co-feedingu ve věku 28 a 33 dPH skupina se 7-denní délkou periody co-feedingu (skupina X a XII) vyšších hodnot spalného tepla per capita než skupina s 1-denní délkou periody co-feedingu (skupina XI a XIII). U krmného režimu s ukončeným co-feedingem ve věku 23 dPH tomu bylo přesně naopak (vyšší hodnoty dosahovala skupina IX oproti skupině VIII). Nejvyšší hodnoty spalného tepla per capita však byly dosaženy ve skupině III (pozitivní kontrola).



Obrázek č. 11: Spalné teplo ( $J \cdot ks^{-1}$ ) v neoplozených vytřených jikrách a somatických tkáních larev/juvenilů piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) po zahájení mixogenní výživy (6 dPH) a na konci experimentu (48 dPH).

Údaje vypočteny z průměrných hodnot suché váhy (viz Tabulka č. 9 a text výše – kapitola Výsledky) a spalného tepla v bezvodém vzorku na jednotku hmotnosti (viz Tabulka č. 10). Skupiny VI a VII nebyly do tabulky zahrnuty z důvodu absence dat pro spalné teplo pro jedince na konci pokusu

$Q_s^a$  – analytický vzorek,  $Q_s^d$  – bezvodý vzorek, III – pozitivní kontrola krmná dekapsovanými cystami žábřonožek, VIII až XIII – skupiny s aplikovaným co-feedingem (krmné schéma – viz kapitola Materiál a Metodika – obrázek č. 1)

## 6. DISKUZE

Použití metody co-feedingu bylo již úspěšně aplikováno u celé řady sladkovodních druhů ryb, většinou s pozitivními výsledky z hlediska růstu a přežívání larev nebo juvenilů (Conceição a kol., 2010a). Nicméně tato diplomová práce je první studií zabývající se problematikou převodu raných vývojových stádií u piskoře pruhovaného. Několik pokusů o převod raných stádií blízkého příbuzného druhu piskoře dálnovýchodního provedli v posledních letech Wang a kol. (2008b; 2009a) a to vždy s velmi dobrými výsledky. Jako živá potrava jsou při odchovu larev ryb velmi často používány žábřonožky z rodu *Artemia* (Mella a Banik, 2015). Ty byly použity i pro odchov piskoře pruhovaného ve formě čerstvě vylíhlých nauplií ve studii Adámkové a kol. (2000). V rámci předložené DP byly však použity žábřonožky ve formě dekapsulovaných cyst. S touto formou bylo ve srovnání s vylíhlými nauplii dosaženo lepších výsledků např. při odchovu lína obecného (García a kol., 2011; Mamcarz a kol., 2011).

Základem úspěšného převodu raných stádií z živé na suchou potravu je dostatečná znalost ontogenetického vývoje (především vývoje trávicího traktu) a také nutričních nároků, které se právě během rychlého raného vývoje v průběhu larvální periody mohou významně lišit (Holt, 2011; Hamre a kol., 2013). Bohužel v případě piskoře pruhovaného jsou dosavadní znalosti o nutričních nárocích jen zcela minimální. Z velké části je potřeba využívat znalostí získaných u piskoře dálnovýchodního, pro kterého existují alespoň základní informace o nutričních nárocích na hrubý protein pohybující se v rozsahu 30 – 45 % (Yan-ping, 2009; Kim a kol., 2013; Wen-juan a kol., 2014) a na obsah lipidů na úrovni 7 % (Kim a kol., 2013). Nicméně tyto údaje byly stanoveny i u piskoře dálnovýchodního pouze pro juvenilní stádium. Pro larvální stádia ryb je obecně doporučován obsah lipidů na úrovni 18 % (Cahu a Infante, 2001). V případě pokusu podniknutého v rámci předložené DP byl použit startér s obsahem hrubého proteinu 58 % a obsahem lipidů na úrovni 12 % z důvodu zajištění dostatečných (vyšších) nutričních nároků larev ryb, jak vyplývá i ze závěrů např. práce Cahu a Infante (2001). I přesto byl z hlediska průběžného přežívání (na základě výsledků dílčích přežívání mezi jednotlivými 7-denními intervaly) larev piskoře pruhovaného ve všech experimentálních skupinách zaznamenán náhlý propad (citelný pokles) v přežívání mezi 13 a 20 dPH (8 – 13 dní po zahájení mixogenní výživy) bez ohledu na načasování zahájení periody co-feedingu nebo délku jejího trvání. Tento trend byl

u piskoře pruhovaného ovšem zaznamenán i Adámkovou a kol. (2000) v intervalu mezi 7. a 14. dnem od zahájení mixogenní výživy při teplotě  $17,7 \pm 2,3$  °C či Wangem a kol. (2009a) u larev piskoře dálnovýchodního. Uvedené výsledky tak naznačují, že larvy piskoře pruhovaného (a pravděpodobně i dalších zástupců rodu *Misgurnus*) zřejmě prochází v uvedeném stádiu během ontogenetického vývoje kritickým obdobím z hlediska přežívání. Jedním z kritických úseků larvální periody je přechod larev z mixogenní výživy na striktně exogenní výživu (Peňáz, 2000). Tato kritická událost byla u krmených larev piskoře pruhovaného popsána Drozdem (2011) ve věku 8 dPH při teplotě vody 18 °C. Trend v průběhu přežívání u larev, které nebyly po celou dobu pokusu krmeny a byly tedy odkázány pouze na endogenní výživu (hladová kontrola), měl však ještě rychlejší průběh. Přežívání vykazovalo u této skupiny sestupný trend již během intervalu 6 – 13 dPH, kdy kleslo na hodnotu cca 60 % (u krmených larev bylo přežívání ve stejném období zhruba 90 %). Z tohoto důvodu je tedy pravděpodobné, že pozorovaný propad průběžného přežívání u krmených skupin v intervalu 13 a 20 dPH byl způsoben jinými faktory (viz diskuze níže). Na dosažených růstových (morfometrických a gravimetrických) ukazatelích se tento pokles přežívání však neprojevil.

Podobně jako ve studii Adámkové a kol. (2000), i v případě předložené DP, došlo ve skupinách, kterým byla v tomto kritickém období (13 – 20 dPH) předkládána živá potrava (skupina III a VI – XIII), ke zvýšení průběžného přežívání (přežívání mezi jednotlivými 7-denními intervaly) larev v intervalu od 20 – 27 dPH a to na úroveň převyšující hodnotu 80 %. Naopak larvy krmené po celou dobu pouze suchým startérem (negativní kontrola) a larvy, u kterých byla perioda co-feedingu ukončena ve věku 13 dPH (skupina IV a V) tedy před následujícím kritickým obdobím, nevykazovaly v navazujícím intervalu (20 – 27 dPH) zvýšení průběžného přežívání. Přežívání v těchto skupinách mělo v průběhu celého pokusu trvalý sestupný trend, který trval až do 41 dPH (36 dní po zahájení mixogenní výživy), kdy v těchto skupinách uhynuli poslední jedinci.

Také nárůst morfometrických a gravimetrických parametrů byl u larev krmených pouze startérem oproti skupinám, při jejichž odkrmu byla využita živá potrava, velmi pomalý. Na základě těchto výsledků je zřejmé, že podobně jako u raných stádií dalších druhů ryb, jako je například lín obecný (Celeda a kol., 2009; Dousek a kol., 2009; Mamcarz a kol., 2011), kapr obecný (Dabrowski, 1984; Jirásek a kol., 2002; Mareš a kol., 2002) a piskoř dálnovýchodní (Wang a kol., 2008b), i v případě raných stádií

piskoře pruhovaného není vhodné provádět odchov krmením pouze suchého startéru. Využití živé potravy je proto nezbytné. Při využití pouze suchého krmiva dochází nejen k citelnému zpomalení velikostního a hmotnostního růstu, ale především k fatálním následkům jako je snížená (až nulová) míra přežívání.

Podobné následky však má i odchov při využití živé potravy, kdy je co-feeding ukončen ve věku 13 dPH. Proto i tento režim odkrmu lze považovat za zcela nevhodný při umělém odchovu raných stádií piskoře pruhovaného. Jedním z možných vysvětlení negativních výsledků získaných u jedinců s výše popsaným krmným režimem je plně nediferenciovaný trávicí trakt. Larvy ryb mají při přechodu na mixogenní výživu funkční trávicí systém, ten se ale funkčně a strukturálně výrazně liší od trávicího systému juvenilů a dospělých ryb (Govoni a kol., 1986). Přestože slabě vyvinutý trávicí trakt larev plně stačí pro trávení přirozené potravy (Kolkovski, 2001), nemusí být dostatečně diferenciovaný pro trávení startéru, který jednak obsahuje vyšší procento sušiny a jednak může obsahovat živiny a minerály pro larvy v nestravitelné formě (Kolkovski, 2001; Conceição a kol., 2010b; Holt, 2011). Navíc piskoř pruhovaný je jedním z druhů ryb, kterým chybí žaludek (Baruš a Oliva, 1995b). Přestože u druhů ryb bez žaludku je trávení proteinů nahrazeno vyšší aktivitou proteolytických enzymů (Lauff a Hofer, 1984) a aktivita trávicích enzymů před zahájením mixogenní výživy byla prokázána například u tlamouna nilského (Tengjaroenkul a kol., 2002), sekavce tajvanského (Zhang a kol., 2015) nebo kapra obecného (Farhoudi a kol., 2013) je aktivita trávicích enzymů u raných stádií na celkově mnohem nižší úrovni než u dospělých ryb (Govoni a kol., 1986; Kolkovski, 2001). Navíc během larválního vývoje může docházet i k náhlému poklesu aktivity enzymů, jak popisuje např. Farhoudi a kol. (2013) u larev kapra obecného. Neschopnost larev trávit suchou potravu může být nejenom vysvětlujícím faktorem neúspěšného odchovu larev krmených pouze suchým startérem a larev s ukončením periody co-feedingu ve věku 13 dPH, ale může být také důvodem náhlého poklesu průběhu přežívání v intervalu 13 až 20 dPH u všech experimentálních skupin. Toto by platilo za předpokladu, že by tento faktor ovlivnil i larvy krmené živou potravou.

Nicméně s ontogenetickým vývojem se u larev zlepšuje schopnost trávit a asimilovat živiny z potravy (Hamre a kol., 2013). Tomu nasvědčují i výsledky v předložené diplomové práci. Již ve skupině, kde došlo k ukončení co-feedingu ve stáří 18 dPH (skupina VI a VII), bylo zaznamenáno mírné zvýšení průběžného přežívání na konci pokusu (interval 41 – 48 dPH), které se pohybovalo na úrovni 50 %. Nicméně

uspokojivých výsledků průběžného přežívání bylo z hlediska umělého odchovu piskoře pruhovaného dosaženo až při ukončení co-feedingu ve stáří 23, 28 a 33 dPH (skupina VIII – XIII). V těchto skupinách dosahovalo průběžné přežívání (přežívání v jednotlivých 7-denních intervalech) od 27. dPH do konce pokusu hodnot vyšších než 80 %. Avšak na rozdíl od výsledků Wanga a kol. (2008b), kteří zahájili co-feeding u piskoře dálnovýchodního ve věku 20 dPH a dosáhli v tomto krmném režimu lepšího přežívání než ve skupině krmené pouze živou potravou, v rámci předložené DP tento jev pozorován nebyl. Průběžné přežívání dosažené ve skupinách s krmným režimem, kdy byl co-feeding ukončen ve věku 23 dPH a déle, se na konci pokusu nelišilo nejen mezi těmito skupinami, ale nelišilo se ani od přežívání skupiny krmené po celou dobu pokusu pouze živou potravou.

Z hlediska růstu mělo vliv načasování ukončení co-feedingu u piskoře pruhovaného mírně odlišný trend od trendu průběžného přežívání. Protože s ohledem na výsledky růstu nebylo dosaženo uspokojivých výsledků nejenom při ukončení co-feedingu ve věku 13 dPH, ale i při ukončení co-feedingu ve stáří 18 dPH. Navíc jedinci s ukončením co-feedingu ve věku 18 dPH, dosahovaly na konci pokusu výrazně nižšího ontogenetického stupně než jedinci s ukončením co-feedingu později (viz Příloha č. 11). Naopak velmi dobrých výsledků z hlediska zjištěných morfometrických a gravimetrických parametrů na konci pokusu bylo dosaženo, pokud byl co-feeding ukončen ve stáří 28 dPH a déle. Přesto velikost i hmotnost takto na suchou potravu převedených jedinců nedosahovaly tak vysokých hodnot jako u jedinců krmených po celou dobu pokusu výhradně živou potravou. Určitou výjimku tvořili pouze jedinci, u kterých byl co-feeding ukončen ve věku 33 dPH. Ti dosahovali v případě některých morfometrických parametrů na konci pokusu srovnatelných hodnot jako skupina krmená po celou dobu experimentu pouze živou potravou. Na rozdíl od výsledků, kterých dosáhli Wang a kol. (2008b) u piskoře dálnovýchodního, v předložené DP tak nebylo ani v případě růstu (velikost, hmotnost jedinců na konci pokusu) dosaženo lepších výsledků při využití metody co-feedingu.

Na základě zjištěných výsledků tak lze usoudit, že trávicí trakt larev piskoře pruhovaného je při ukončení co-feedingu ve stáří 18 dPH a později sice dostatečně diferenciován na to, aby mohly být larvy převedeny metodou co-feedingu na suchou potravu bez viditelného negativního dopadu na jejich přežívání, nicméně v tomto věku zřejmě larvy ještě nejsou schopné plně pokrýt nároky na růst trávením suché potravy. Požadavky na růst jsou v rámci ontogenetického vývoje během larvální periody na

svém maximu a intenzita růstu larev je v této době závislá především na dostupnosti (množství) a kvalitě (formě) přijatého proteinu (Rønnestad a kol., 1999; Conceição a kol., 2010b; Holt, 2011). Z toho plyne, že aby trávicí trakt larev piskoře pruhovaného byl strukturálně a funkčně plně připravený zcela pokrýt vysoké nároky larev na růst pouze prostřednictvím příjmu suchého startéru, musí být co-feeding ukončen v pokročilejším věku 28 dPH a déle.

Kromě přežívání a růstu ovlivnilo načasování zahájení co-feedingu také prvkové složení somatických tkání larev a juvenilů. Obecně poměr obsahu C a N v tkáních ryb odráží poměr lipidů a proteinů v předkládaném krmivu, respektive jejich množství, které jsou ryby schopné strávit z krmiva (Ferron a Leggett, 1994). V našem experimentu se však typ potravy u skupin, u kterých byla použita metoda co-feedingu, během závěrečné fáze nelišil. Všechny skupiny byly krmeny identickým druhem startérového krmiva. Obsah C i N v somatických tkáních však stoupal s prodlužujícím se načasováním zahájení periody co-feedingu a nejnižší obsah obou zmíněných biogenních prvků tak byl na konci pokusu zaznamenán u juvenilů krmených po celou dobu experimentu pouze živou potravou.

V případě spalného tepla na jednotku hmotnosti nebyla zaznamenána viditelná odlišnost mezi experimentálními skupinami a nebyla tak nalezena ani závislost mezi spalným teplem a krmným režimem larev/juvenilů piskoře pruhovaného. Situace je však zcela odlišná při zhodnocení spalného tepla převedeného na jednoho jedince. V takovém případě bylo spalné teplo, které lze chápat také jako množství energie uložené o somatických tkáních jednoho jedince, pozitivně korelováno s prodlužujícím se termínem ukončení periody co-feedingu. Žádná experimentální skupina, u níž byla metoda co-feedingu využita, však nedosáhla tak vysokých hodnot spalného tepla per capita jako skupina krmená výhradně živou potravou. Hodnoty spalného tepla per capita, podobně jako některé námi měřené morfo-gravimetrické parametry (hmotnost, výška těla), poukazují na částečné opoždění růstu (oproti pozitivní kontrole) i u jedinců, u nichž byl ukončen co-feeding v nejpozdnějším sledovaném termínu (ve věku 33 dPH). Tito jedinci sice byli schopni trávením suchého startéru pokrýt nároky na délkový růst, ale hmotnostní růst (spolu s množstvím do tělních tkání deponované energie) byl zřejmě následkem co-feedingu mírně zpomalen. Toto zaostání v hmotnostním růstu nebyli jedinci piskoře schopni dohnat ani po dobu následujících 14 dní, kdy byli krmeni pouze suchým startérem.

Vysvětlení tohoto jevu se nabízí několik, pro žádné z nich však neexistují empirická data. Jedním z možných vysvětlení může být příliš krátká perioda podávání živé potravy, během které je trávicí trakt larev stimulován specifickými látkami obsaženými v živé potravě (Kolkovski, 2001). Jiným vysvětlením může být příliš časně ukončení co-feedingu z hlediska nedokončeného vývoje trávicího traktu, či orgánů podílejících se na trávení potravy. Tento aspekt byl již podrobně diskutován výše.

Z výše uvedeného vyplývá, že ukazatele, jako je hmotnost, výška těla a v neposlední řadě i obsah spalného tepla per capita, jsou velmi citlivé vůči byť nepatrnému strádání raných stádií ryb a lze je tedy pokládat za vhodné ukazatele kvality plůdku.

Hodnoty kumulativního (celkového) přežívání larev a juvenilů od stáří 20 dPH až do konce pokusu byly silně ovlivněny událostí náhlého poklesu přežívání v intervalu 13 až 20 dPH. Proto na rozdíl od průběžného přežívání (přežívání mezi jednotlivými 7-denními intervaly) nemohla být tato proměnná z důvodu možného celkového zkreslení dat použita pro hodnocení vlivu krmeného režimu na přežívání larev a juvenilů. Přesto výsledky kumulativního přežívání na konci pokusu nejlépe odráží fatální dopad náhlého umírání larev během kritického období 13 – 20 dPH na úspěšnost odchovu piskoře pruhovaného. Kumulativní přežívání na konci pokusu ve skupinách s ukončením co-feedingu ve stáří 18 dPH a déle, dosahuje hodnot okolo 50 %. U larev krmených pouze živou potravou (pozitivní kontrola) měla tato událost za následek pokles kumulativního přežívání dokonce až na hodnoty okolo 30 %. Uvedené zjištění je klíčové především z hlediska umělého odchovu raných stádií piskoře pruhovaného, neboť se nelze tomuto náhlému nárůstu mortality pravděpodobně vyhnout (viz také výsledky Adámkové a kol., 2000) a je proto nezbytné s tímto skokovým snížením přežívání počítat.

Pokud se jedná o zhodnocení vlivu délky periody co-feedingu na úspěšnost převodu raných stádií piskoře pruhované na suchou potravu, lze na základě výsledků předložené DP říci následující. Již samotné krmení raných ontogenetických stádií živou potravou před aplikací co-feedingu může zvýšit aktivitu trávicích enzymů. Může tak dojít ke zvýšení schopnosti larev následně trávit suchou potravu díky přítomnosti autolytických enzymů, zymogenům aktivujících trávicí enzymy larev a také díky přítomnosti neuropeptidů a výživově „růstovým“ faktorům zvyšujícím intenzitu trávení (Kolkovski, 2001; Dubský a kol., 2003). Samotná perioda co-feedingu pak slouží k postupné adaptaci larev na suchý startér (Wang a kol., 2009a; Conceição a kol., 2010a). Přesto v rámci předložené DP nebyl mezi skupinami krmenými metodou co-



feedingu, lišícími se jeho délkou (1 nebo 7 dní), nalezen statisticky průkazný rozdíl v trendu přežívání. V případě morfometrických a gravimetrických parametrů byl rozdíl mezi dvojicemi skupin s odlišnou délkou co-feedingu nalezen pouze u skupin, u nichž byl co-feeding ukončen ve věku 13, 18 a 23 dPH, a to jen v případě jen některých studovaných parametrů. V této souvislosti stojí však za zmínku, že v případě skupin, u nichž byl ukončen co-feeding ve věku 13 a 23 dPH, byly zaznamenány vyšší hodnoty studovaných morfometrických a gravimetrických parametrů u larev/juvenilů s délkou co-feedingu 1 den, nikoliv 7 dní. Toto zjištění je v přímém kontrastu s doposud získanými znalostmi z literatury (Wang a kol., 2009a; Conceição a kol., 2010a). Tuto skutečnost lze pravděpodobně vysvětlit vyšším dosaženým ontogenetickým stádiem při zahájení periody co-feedingu u jedinců s 1-denním, oproti jedincům se 7-denním, co-feedingem, kteří tak logicky zahájili co-feeding o 6 dní dříve. Nicméně u skupin, u nichž došlo k ukončení co-feedingu ve stáří 28 a 33 dPH, nebyl tento efekt již pozorován. Jedince z těchto skupin tak lze tedy považovat za dostatečně vyspělé (na dostatečném ontogenetickém stádiu) na to, aby se tento efekt délky co-feedingu při převodu na suchou potravu již neprojevil.

Na základě našich výsledků tedy vyplývá, že raná ontogenetická stádia piskoře pruhovaného lze úspěšně převést metodou co-feedingu na suchou potravu. Na úspěšnost převodu však nemá vliv délka periody co-feedingu, ale hlavní roli hraje načasování periody co-feedingu, respektive stáří (dosažený ontogenetický stupeň) jedinců, u kterých je metoda co-feedingu aplikována.

Na základě našich výsledků můžeme tedy u piskoře pruhovaného doporučit při odchovu raných stádií a převodu na suchou potravu použití metody co-feedingu s termínem ukončení ve věku 33 dPH. Tímto postupem převodu lze docílit srovnatelného délkového růstu a přežívání s jedinci piskoře pruhovaného odchovanými pouze na živé potravě. Navíc převod a následně odchov raných stádií ryb čistě na suché potravě s sebou nese mnohé výhody. Patří mezi ně zejména lepší zoohygiena chovu (prevence zanesení onemocnění oproti odchovu pomocí velikostně tříděného zooplanktonu z volných vod), značná časová úspora (časová náročnost líhnutí či dekapsulace cyst žábřonožek) či ekonomická úspora (vysoké ekonomické náklady pro nákup cyst žábřonožek a následné případné obohacování vylíhlých nauplií). V neposlední řadě při případném využití raných stádií piskoře pruhovaného pro toxikologické studie (Schreiber a kol., 2017a; 2017b), podobně jako např. piskoře dálnovýchodního v oblasti biotechnologií (Nakagawa a kol., 2002), pak jedině jedinci

převedení striktně na suchou potravu poskytují nezbytný standard pro provádění těchto studií.

V případě odchovu plůdku piskoře pruhovaného však zůstávají, jak dokazují také výsledky předložené DP, stále bílá místa, která jsou nezbytná vyřešit pro úspěšný odchov plůdku v umělých podmínkách. Proto je zapotřebí dalšího výzkumu, který by například doplnil chybějící znalosti o problematice vývoje trávicího traktu a nutričních nároků raných stádií piskoře pruhovaného během ontogeneze. Na výsledky předložené diplomové práce, kterou lze chápat jako první vlašťovku poskytující pionýrská data pro odchov plůdku piskoře pruhovaného, by mohl navázat i výzkum zabývající se možností aplikace co-feedingu u piskoře pruhovaného během juvenilní periody s delším intervalem příjmu živé potravy. Cílem všech těchto aktivit by pak mělo být zefektivnění odchovu a převodu raných stádií na suchou startérovou směs vedoucí k následnému zvýšení kvality získaného násadového materiálu pro účely záchranného chovu piskoře pruhovaného nejen na území ČR.

## 7. ZÁVĚR

- Bez ohledu na zvolený způsob krmného režimu doprovází odchov larev piskoře pruhovaného výrazný pokles přežívání v období 13 – 20 dPH, který má za následek pokles kumulativního přežívání na úroveň 30 - 50 %.
- Načasování termínu ukončení co-feedingu prokazatelně ovlivnilo průběžné přežívání (přežívání v jednotlivých 7-denních intervalech) a růst. Se stoupajícím dosaženým ontogenetickým stupněm vývoje při ukončení co-feedingu (ve věku 13, 18, 23, 28 a 33 dPH) se zvyšuje jak míra přežívání, tak i hodnoty morfometrických a gravimetrických parametrů.
- Načasování termínu ukončení co-feedingu také ovlivnilo procentuální zastoupení makrobiogenních prvků (uhlíku a dusíku) a množství spalného tepla (množství do somatických tkání deponované energie) per capita v somatických tkáních larev a juvenilů na konci pokusu. Hodnoty uvedených parametrů vzrůstaly s prodlužujícím se termínem ukončení co-feedingu.
- Hodnoty spalného tepla přepočtené na jednotku hmotnosti stanovené na konci pokusu naopak nebyly viditelně ovlivněny krmným režimem.
- Délka periody co-feedingu (1 nebo 7 dní) neměla vliv na žádný z těchto parametrů: přežívání, růstové (morfometrické i gravimetrické) parametry, podíl makrobiogenních prvků a spalného tepla v somatických tkáních (vyjádřeno jak na jednotku hmotnosti, tak i per capita).
- Odchov plůdku piskoře pruhovaného výhradně pomocí suchých startérových směsí je krajně nevhodný. Dochází při něm ke značné retardaci růstu provázené masivním úhynem. Stejný negativní efekt na larvy piskoře pruhovaného má i krmný režim s ukončení co-feedingu ve věku 13 dPH.
- Z hlediska hmotnostního růstu (mokrý i suchá váha) a s tím souvisejících parametrů, výškou těla a množstvím spalného tepla per capita, je stále nejefektivnější způsob odchovu plůdku piskoře pruhovaného pomocí pouze živé potravy.
- Z hlediska přežívání lze považovat za vhodný způsob převodu plůdku piskoře pruhovaného na suchou potravu režim s co-feedingem ukončeným ve věku 23, 28 a 33 dPH. S ohledem na velikostní růst je pak optimální ukončit co-feeding až ve věku 33 dPH. Jedinci převedeni tímto způsobem dosahují v rámci

uvedených parametrů stejných výsledků jako jedinci krmění pouze živou potravou.

## 8. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Adámek, Z., Helešič, J., Maršálek, B., Rulík, M. 2010. Aplikovaná hydrobiologie. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Vodňany, 324 – 325.
- Adámková, I., Adámek, Z., Šútovský, I. 2000. Early feeding of new artificially propagand fish: weather loach, *Misgurnus fossilis*, larvae. Krmiva, 42: 65 – 70.
- Adeyemo, A. A., Oladosu, G. A., Ayinla, A. O. 1994. Growth and survival of fry of African catfish species, *Clarias gariepinus* Burchell, *Heterobranchus bidorsalis* Geoffery and *Heteroclarias* reared on *Moina dubia* in comparison with other first feed sources. Aquaculture, 119: 41 – 45.
- Alavi, S. M. H., Drozd, B., Hatef, A., Flajšhans, M. 2013. Sperm morphology, motility, and velocity in naturally occurring polyploid European weatherfish (*Misgurnus fossilis* L.). Theriogenology, 80: 153 – 160.
- Aragão, C., Conceição, L. E. C., Dinis, M. T., Fyhn, H. 2004. Amino acid pools of rotifers and *Artemia* under different conditions: nutritional implications for fish larvae. Aquaculture, 234: 429 – 445.
- Balon, E. K. 1985. The theory of saltatory ontogeny and life history models revisited. In: Balon, E. K. (Ed.): Early life historie sof fishes: new development, ecological and evolutionary perspectives. DR W. Junk Publishers, Dordrecht, 13 – 28.
- Balon, E. K. 1986. Type sof feeding in the ontogeny of fishes and the life-history model. Environmental Biology of Fishes, 16: 11 – 24.
- Bártů, V., Kopp, R. 2004. Exkrece amoniaku u plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) ve vztahu k různé úrovni proteinů v krmivu. In: Spurný, P. (Ed.): „55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně“: Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí konané v Brně 30. 11. a 1. 12. 2004. Ústav rybářství a hydrobiologie MZLU v Brně, 114 – 118.
- Baruš, V., Oliva, O. 1995a. Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes) 2. díl. Academia. Praha, 288 - 291s.
- Baruš, V., Oliva, O. 1995b. Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes) 1. díl. Academia. Praha, 623 s.

- Baskerville-Bridges, B., Kling, L. J. 2000. Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture*, 189: 109 – 117.
- Bell, J. G., McEvoy, L. A., Estevez, A., Shields, R. J., Sargent, J. R. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227: 211 – 220.
- Blaxter, J. H. S., Hempel, G. 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, 28: 211-240.
- Bogut, I., Has-Schön, E., Adámek, Z., Rajković, V., Galović, D. 2007. *Chironomus plumosus* larvae – a suitable nutrient for freshwater farmed fish. *Poljoprivreda*, 13: 159 – 162.
- Bohlen, J., Šlechtová, V., Doadrio, I., Ráb, P. 2007. Low mitochondrial divergence indicates a rapid expansion across Europe in the weather loach, *Misgurnus fossilis* (L.). *Journal of Fish Biology*, 71: 186 – 194.
- Bolasina, S., Pérez, A., Yamashita, Y. 2006. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 252: 503 – 515.
- Brandstaetter, R., Kotrschal, K. 1989. Life history of roach, *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Teleostei). A qualitative and quantitative study on the development of sensory brain areas. *Brain Behavior and Evolution*, 34: 35 – 42.
- Cahu, C. L., Infante, J. L. Z. 1994. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109A: 213 – 222.
- Cahu, C., Infante, J. Z., Escaffre, A. -M., Bergot, P., Kaushik, S. 1998. Preliminary results on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing with compound diet from first feeding. Comparison with carp (*Caprinus carpio*) larvae. *Aquaculture*, 169: 1 – 7.
- Cahu, Ch., Infante, J. Z. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200: 161 – 180.
- Carvalho, A. P., Escaffre, A. -M., Oliva Teles, A., Bergot, P. 1997. First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. *Aquaculture International*, 5: 361 – 367.

- Celada, J. D., Aguilera, A., García, V., Carral, J. M., Sáez-Royuela, M., González, R., González, Á. 2009. Rearing juvenile tench (*Tinca tinca* L.) under controlled conditions using *Artemia nauplii* as supplement to dry diet. *Aquaculture International*, 17: 565 – 570.
- Conceição, L. E. C., Houlihan, D. F., Verreth, J. A. J. 1997. Fast growth, protein turnover and costs of protein metabolism in yolk-sac larvae of the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 16: 291 – 302.
- Conceição, L. E. C., Grasdalen, H., Rønnestad, I. 2003. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*, 227: 221 – 232.
- Conceição, L. E. C., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., Dinis, M. T. 2010a. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41: 613 – 640.
- Conceição, L. E. C., Aragão, C., Richard, N., Engrola, S., Gavaia, P., Mira, S., Dias, J. 2010b. Novel methodologies in marine fish larval nutrition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 1 – 16.
- Dabrowski, K., Rusiecki, M. 1983. Content of total and free amino acids in zooplanktonic food of fish larvae. *Aquaculture*, 30: 31 – 42.
- Dabrowski, K. 1984. Influence of initial weight during the chase from live to compound feed on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture*, 40: 27 – 40.
- Dabrowski, K. 1992. Ascorbate concentration in fish ontogeny. *Journal of Fish Biology*, 40: 273 – 279.
- Dawood, M. A. O., Koshio, S. 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. *Aquaculture*, 454: 243 – 251.
- Drozd, B. 2011. Study of selected of selected population parameters of weatherfish *Misgurnus fossilis* (Cypriniformes, Cobitidae): early life history and status of ploidy in fis from Lužnice River floodplain area. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vodňany.
- Drozd, B., Bláha, M. 2011. Food composition of weatherfish (*Misgurnus fossilis*) larvae and juveniles from natural habitat. *Diversification in Inland Finfish Aquaculture*, Písek, 16<sup>th</sup>- 18<sup>th</sup> May 2011, p. 90. (poster presentation).

- Dousek, O., Cileček, M., Vítek, T., Majvelder, L., Mareš, J. 2009. Vliv diety a strategie výživy na vývoj a výskyt morfologických malformací u raných stádií lína obecného (*Tinca tinca*). In: Kopp, R. (Ed.): „60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně“: Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí konané v Brně 2. 12. a 3. 12. 2009. MZLU v Brně Oddělení rybářství a hydrobiologie, 71 – 77.
- Dubský, K., Šrámek, V., Kouřil, J. 2003. Obecné rybářství. Informatorium. Praha, 308 s.
- Evangelista, A. D., Fortes, N. R., Santiago, C. B. 2005. Comparison of some live organism and artificial diet as feed for Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Günther) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 21: 437 – 443.
- Farhoudi, A., Abedian Kenari, A. M., Nazari, R. M., Makhdoomi, Ch. 2013. Changes of digestive enzymes activity in common carp (*Cyprinus carpio*) during larval ontogeny. *Iranian Journal of fisheries Sciences*, 12: 320 – 334.
- Fazeli, Z., Azari-Takami, G. 2006. The best time and concentration for yeast probiotic enrichment of *Artemia urmiana* nauplii. *Pakistan Journal of biological Sciences*, 9: 2159 – 2161.
- Ferron, A., Leggett, C. W. 1994. An appraisal of condition measures for marine fish larvae. *Advances in marine biology*, 30: 217 – 303.
- Fontagné, S., Geurden, I., Escaffre, A., Bergot, P. 1998. Histological changes induced by dietary phospholipids in intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 161: 213 – 223.
- Franch, N., Clavero, M., Garrido, M., Gaya, N., López, V., Pou-Rovira, Q., Queral, J. M. 2008. On the establishment and range expansion of oriental weatherfish (*Misgurnus anguillicaudatus*) in NE Iberian Peninsula. *Biological Invasions*, 10: 1327 – 1331.
- Freyhof, J. 2011. *Misgurnus fossilis*. The IUCN Red List of Threatened Species.
- Freyhof, J., Korte, E. 2005. The first record of *Misgurnus anguillicaudatus* in Germany. *Journal of Fish Biology*, 66: 568 – 571.
- Fuiman, A. L., Higgs, D. M. 1997. Ontogeny, growth and the recruitment process. In: Chambers, R. Ch., Trippel, E. A. (Ed.): Early life history and recruitment in fish populations, 21: 225 – 249.



- Gao, J., Koshio, S., Nguyen, B. T., Wang, W., Cao, X. 2012. Comparative studies on lipid profiles and amino acid composition of wild and cultured Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* obtained from southern Japan. *Fisheries Science*, 78: 1331 – 1336.
- Gao, L., Duan, M., Cheng, F., Xie, S. 2014a. Ontogenetic development in the morphology and behavior of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) during early life stages. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32: 973 – 981.
- Gao, j., Koshio, S., Wang, W., Li, Y., Huang, S., Cao, X. 2014b. Effects of dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant response of Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae. *Aquaculture*, 426 – 427: 304 – 309.
- García, V., Celeda, J. D., Carral, J. M., González, R., González, Á., Sáez-Royuela, M. 2011. A comparative study of different preparations of decapsulated *Artemia* cysts as food for tench (*Tinca tinca* L.) larvae. *Animal Feed Science and Technology*, 170: 72 – 77.
- Gela, D., Kahanec, M., Rodina, M. 2012. Metodika odchovu raných stádií jeseterovitých ryb. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Vodňany, s. 26 – 27.
- Geurden, I., Radünz-Neto, J., Bergot, P. 1995. Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 131: 303 – 314.
- Geurden, I., Charlon, N., Marion, D., Bergot, P. 1997. Influence of purified soybean phospholipids on early development of common carp. *Aquaculture International*, 5: 137 – 149.
- Geurden, I., Marion, D., Charlon, N., Coutteau, P., Bergot, P. 1998. Comparison of different soybean phospholipidic fractions as dietary supplements for common carp, *Cyprinus carpio*, larvae. *Aquaculture*, 161: 225 – 235.
- González-Rodríguez, Á., Celada, J. D., Carral, J. M., Sáez-Royuela, M., Fuertes, J. B. 2014. Effects of varying protein level in practical diets on survival, growth, feed utilization and body composition of juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Aquaculture International*, 22: 1723 – 1735.
- Govoni, J. J., Boehlert, G. W., Watanabe, Y. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes*, 16: 59 – 77.

- Hamre, K., Srivastava, A., Rømmestad, I., Mangor-Jensen, A., Stoss, J. 2008. Several micronutrients in the rotifer *Brachionus sp.* may not fulfil the nutritional requirements of marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 14: 51 – 60.
- Hamre, K., Krossøy, Ch., Lock, E., Moren, M. 2010. Roles of lipid-soluble vitamins during ontogeny of marine fish larvae. *Aquaculture Research*, 41: 745 – 750.
- Hamre, K. 2011. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 17: 98 – 115.
- Hamre, K., Yúfera, M., Rønnestad, I., Bonglione, C., Conceição, L. E. C., Izquierdo, M. 2013. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture*, 5: S26 – S58
- Halver, J. E., Hardy, R. W. 2002. *Fish nutrition*. Third Edition, Academic press, 213 – 219s.
- Haylor, G. S., Mollah, M. F. A. 1995. Controlled hatchery production of African catfish, *Clarias gariepinus*: the influence of temperature on early development. *Aquatic Living Resources*, 8: 431 – 438.
- Helland, S., Triantaphyllidis, G. V., Fyhn, H. J., Evjen, M. S., Lavens, P., Sorgeloos, P. 2000. Modulation of the free amino acid pool and protein content in populations of the brine shrimp *Artemia spp.* *Marine Biology*, 137: 1005 – 1016.
- Holt, J. 2011. *Larval fish nutrition*. Wiley-Blackwell. Chichester, 435s.
- Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Masouleh, A. S., Esteban, M. Á. 2014. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 6: 1 – 14.
- Hoseinifar, S. H., Eshaghzadeh, H., Vahabzadeh, H., Mana, N. P. 2015. Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide. *Aquaculture Research*, 47: 3246 – 3253.
- Hui, B., An-Xiang, W. 2013. Effect of zinc sulfate on growth, immune response and antioxidative of *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of animal and Veterinary Advances*, 12: 521 – 526.

- Hwang, P., Tsai, Y., Tung, Y. 1994. Calcium balance in embryos and larvae of the freshwater-adapted teleost, *Oreochromis mossambicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 325 – 333.
- Iranshahi, F., Jafaryan, H., Faramarzi, M., Kiaalvandi, S., Boloki, M. L. 2012. The enhancement of growth and feeding performance of percid sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae by *Artemia urmiana* nauplii bioencapsulated via baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 774 – 780.
- Izquierdo, M. S., Socorro, J., Arantzamendi, L., Hernández-Cruz, C. M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 97 – 107.
- Jirásek, J., Mareš, J., Regenda, J. 2002. Nutriční aspekty odchovu raných stádií kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) v kontrolovaných podmínkách. In: Spurný, P. (Ed.): „XI. Česká ichtyologická konference“: Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí konané v Brně 25. a 26. září 2002. MZLU v Brně Ústav rybářství a hydrobiologie, 170 – 175.
- Johansson, F., Rådman, P., Andersson, J. 2006. The relationship between ontogeny, morphology, and diet in the Chinese hook snout carp (*Opsariichthys bidens*). *Ichthyological Research*, 53: 63 – 69.
- Kamler, E. 1992. Early life history of fish: An energetics approach. *Fish and Fisheries Series*. 4, Chapman & Hall, Londýn, Velká Británie, 267 s.
- Kessel, N., Dorenbosch, M., Crombaghs, B., Niemeijer, B., Binnendijk, E. 2013. First record of Asian weatherfish loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor, 1842) in River Meuse basin. *BioInvasions Records*, 2: 167 – 171.
- Kim, K. S., Lim, S. G., Bang, I. Ch., Choi, J., Lee, S. 2013. Optimal dietary protein and lipid levels for growth of juvenile muddy loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46: 371 – 376.
- Kimmel, Ch. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., Schilling, T. F. 1995. Stage of embryonic development of the zebrafish. *Development dynamics*, 203: 253 – 310.

- Koetsier, P., Urquhart, A. N. 2012. Desiccation tolerance in a wild population of the invasive oriental weatherfish *Misgurnus anguillicaudatus* in Idaho, USA. Transactions of the American Fisheries Society, 141: 365 – 369.
- Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets. Aquaculture, 200: 181 – 201.
- Kottelat, M., Freyhof, J. 2007. Handbook of European freshwater fishes. Cornol: Publications Kottelat, 646 s.
- Kostomarová, A. A. 1991. The loach *Misgurnus fossilis*. Animal Species for Development Studies. Springer US, 125 – 144.
- Kouba, A., Hamáčková, J., Kozák, P. 2009. Dekapsulace, líhnutí a odkrm žábřonůžek rodu *Artemia*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Vodňany, 35 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Adámek, Z., Sukop, I., Stibranyiová, I., Vachta, R. 1996. The artificial propagation and culture of young weatherfish (*Misgurnus fossilis* L.). In: Kirchhofer, A., Hefti, D. (Ed.): Conservation on Endangered Freshwater Fish in Europe. Berghäuser Verlag, 305 – 310.
- Kryzhanovsky, S. G. 1949. Ecological-morphological patterns of development of the Cyprinoidei and Siluroidei. Tr. Inst. Morfol. Zhivotn. Akad. Nauk SSSR 1, 186 – 195.
- Lall, S. P., Lewis-McCrea, L. M. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish – An overview. Aquaculture, 267: 3 – 19.
- Lauff, M., Hofer, R. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. Aquaculture, 37: 335 – 346.
- Lewis-McCrea, L. M., Lall, S. P. 2010. Effects of phosphorus and vitamin C deficiency, vitamin A toxicity, and lipid peroxidation on skeletal abnormalities in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Journal of Applied Ichthyology, 26: 334 – 343.
- Li, J., Eygensteyn, J., Lock, R. A. C., Verbost, P. M., Van der Heijden, A. J. H., Wendelaar Bonga, S. E., Flik, G. 1995. Branchial chloride cells in larvae and juveniles of freshwater tilapia *Oreochromis mossambicus*. The Journal of Experimental Biology, 198: 2177 – 2184.

- Li, P., Mai, K., Trushenski, J., Wu, G. 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37: 43 – 53.
- Lim, L. C., Cho, Y. L., Dhert, P., Wong, C. C., Nelis, H., Sorgeloos, P. 2002. Use of decapsulated *Artemia* cysts in ornamental fish culture. *Aquaculture Research*, 33: 575 – 589.
- Lovell, T. 1998. Nutrition and feeding of fish. Second Edition, Springer, 22 – 23.
- Lusk, S., Lusková, V., Hánel, L., Lojkásek, B. 2011. Červený seznam mihulí a ryb České republiky – verze 2010. Biodiverzita ichtyofauny České republiky. vol. VIII, 68 – 78.
- Malla, S., Banik, S. 2015. Production and application of live food organisms for freshwater ornamental fish larviculture. *Advances in Bioresearch*, 6: 159 – 167.
- Mamcarz, a., Targońska, K., Kucharczyk, D., Kujawa, R., Źarski, D. 2011. Effect of live and dry food on rearing of tench (*Tinca tinca* L.) larvae under controlled conditions. *Italian Journal of Animal Science*, 10: 42 – 46.
- Mareš, J., Jirásek, J., Regenda, J. 2002. Produkční výsledky odchovu raných stádií kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) v kontrolovaných podmínkách. In: Spurný, P. (Ed.), XI. Česká ichtyologická konference“: Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí konané v Brně 25. a 26. září 2002. MZLU v Brně Ústav rybářství a hydrobiologie, 176 – 182.
- Mendel, J., Lusk, S., Koščo, J., Vetešník, L., Halačka, K., Papoušek, I. 2008. Genetic diversity of *Misgurnus fossilis* populations from the Czech Republic and Slovakia. *Folia Zoologica*, 57: 90 – 99.
- Meyer, L., Hinrichs, D. 2000. Microhabitat preferences and movements of the weatherfish, *Misgurnus fossilis*, in a drainage channel. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 297 – 306.
- Najdegerami, E. H., Baruah, K., Shiri, A., Rekecki, A., Van den Broeck, W., Sorgeloos, P., Boon, N., Bossier, P., De Schryver, P. 2013. Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae fed *Artemia* nauplii enriched with poly-β-hydroxybutyrate (PHB): effect on growth performance, body composition, digestive enzymes, gut microbial community, gut histology and stress tests. *Aquaculture Research*, 46: 801 – 812.

- Nakagawa, M., Kobayashi, T., Ueno, K. 2002. Production of germline chimera in loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) and proposal of new method for preservation of endangered fish species. *Journal of Experimental Zoology*, 293: 624 – 631.
- Nakajima, T. 1984. Larval vs. adult pharyngeal dentition in some Japanese cyprinid fishes. *Journal of dental research*, 63: 1140 – 1146.
- Nguyen, V. T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Kotani, T. 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. *Aquaculture*, 285: 184 – 192.
- Ostaszewska, T., Boruta, A., Olejniczak, M. 2005. The effect of dietary lipid level and composition on growth, survival, and development of the digestive system of larval sneep, *Chondrostoma nasus* (L.). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 35: 79 – 86.
- Palińska-Żarska, K., Żarski, D., Krejszef, S., Nowosad, J., Biłas, M., Trejchel, K., Brylewski, A., Targońska, K., Kucharczyk, D. 2014. The effect of age, size and digestive tract development on burbot, *Lota lota* (L.), Larvae weaning effectiveness. *Aquaculture Nutrition*, 20: 281 – 290.
- Pedersen, B. H. 1997. The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. *Aquaculture*, 155: 259 – 269.
- Pekárik, L., Koščo, J., Košuthová, L., Košuth, P. 2008. Coenological and habitat affinities of *Cobitis elongatoides*, *Sabanejewia balcanica* and *Misgurnus fossilis* in Slovakia. *Folia Zoologica*, 57: 172 – 180.
- Peña, R., Dumas, S. 2005. Effect of delayed first feeding on development and feeding ability of *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Journal of Fish Biology*, 67: 640-651.
- Peňáz, M. 2000. Towards classification and terminology of early life history stages in fishes (Jak v klasifikaci a terminologii raných vývojových stádií ryb). In: Mikešová, J. (Ed.): Sborník referátů ze IV. České ichtyologické konference. JU v ČB VÚRH ve Vodňanech, s. 243-248.
- Péres, A., Cahu, C. L., Infante, J. L. Z., Le Gall, M. M., Quazuguel, P. 1996. Amylase and trypsin response to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15: 237 – 242.

- Radunz-Neto, J., Corraze, G., Bergot, P., Kaushik, S. J. 1996. Estimation of essential fatty acid requirements of common carp larvae using semi-purified artificial diets. *Archives of Animal Nutrition*, 49: 41 – 48.
- Rainuzzo, J. R., Reitan, K. I., Olsen, Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: review. *Aquaculture*, 155: 103 – 115.
- Ribeiro, A. R. A., Ribeiro, L., Sæle, Ø., Dinis, M. T., Moren, M. 2012. Iodine and selenium supplementation increased survival and changed thyroid hormone status in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae reared in a recirculation system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 725 – 734.
- Ringø, E., Birkbeck, T. H. 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research*, 30: 73 – 93.
- Rønnestad, I., Thorsen, A., Finn, R. N. 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177: 201 – 216.
- Rønnestad, I., Yúfera, M., Ueberschar, B., Ribeiro, L., Sæle, Ø., Bonglione, C. 2013. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture*, 5: 559 – 598.
- Ryan, S. G., Smith, B. K., Collins, R. O., Turchini, G. M. 2007. Evaluation of Weaning Strategies for Intesively Reared Australian Freshwater Fish, Murray Cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38: 527 – 535.
- Saavedra, M., Conceição, L. E. C., Pousão-Ferreira, P., Dinis, M. T. 2008. Metabolism of tryptophan, methionine and arginine in *Diplodus sargus* larvae fed rotifers: effect of amino acid supplementation. *Amino Acid*, 35: 59 – 64
- Sahandi, J., Jafariyan, H., Roozbehfar, R., Babaei, S., Dehestani, M. 2012. The use of two enrichment forms (*Brachionus plicatilis* enrichment and rearing water enrichment) with probiotic bacilli spore on growth and survival of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 13: 289 – 295.
- Salze, G., McLean, E., Schwarz, M. H., Craig, S. R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval coibia. *Aquaculture*, 274: 148 – 152.

- Shiri Harzevili, A., Charleroy, D. D., Auxwerx, J., Vught, I., Van Slycken, J., Dhert, P., Sorgeloos, P. 2003. Larval rearing of burbot (*Lota lota* L.) using *Brachionus calyciflorus* rotifer as starter food. *Journal of Applied Ichthyology*, 19: 84 – 87.
- Schmidt, R. E., Schmidt, A. J. 2014. Observations on oriental weatherfish (*Misgurnus anguillicaudatus*), an exotic species in the Hudson river Valley, New York. *Northeastern Naturalist*, 21: 134 – 145.
- Schreiber, B., Monka, J., Drozd, B., Hundt, M., Weiss, M., Oswald, T., Gergs, R., Schulz, R. 2017a. Thermal requirements for growth, survival and aerobic performance of weatherfish larvae *Misgurnus fossilis* (Cypriniformes, Cobitidae). *Journal of Fish Biology*, 90: 1597 – 1608.
- Schreiber, B., Petrenz, M., Monka, J., Drozd, B., Hollert, H., Schulz, R. 2017b. Weatherfish (*Misgurnus fossilis*) as a new species for toxicity testing? *Aquatic Toxicology*, 183: 46 – 53.
- Sirol, R. N., Menin, E., Andrade, D. R., Marinho, A. S. 1998. Larval development of *Hoplias cf. lacerdae* (Pisces: Erythrinidae) and delayed initial feeding effects. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 41: 47-54.
- Soliman, A. K., Jauncey, K., Roberts, R. J. 1986. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59: 197 – 208.
- Stone, D. A. J. 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11: 337 – 369.
- Sun, Y., Song, W., Zhong, Y., Zhang, R., Abatzopoulos, T. J., Chen, R. 1999. Diversity and genetic differentiation in *Artemie* species and populations detected by AFLP markers. *International Journal of Salt Lake Research*, 8: 341 – 350.
- Šusta, J. 1997. Výživa kapra a jeho družiny rybníčné: nové základy rybochovu rybníčního. *Carpio*. Třeboň, 180 s.
- Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J. 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijských ryb. *Informatorium*. Praha, 264 s.



- Tengjaroenkul, B., Smith, B. J., Smith, S. A., Chatreewongsin, Urai. 2002. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 211: 241 – 251.
- Terova, G., Saroglia, M., Papp, Z. G., Cecchini, S. 1998. Ascorbate dynamics in embryos and larvae of sea bass and sea bream, originating from broodstocks fed supplements of ascorbic acid. *Aquaculture International*, 6: 357 – 367.
- Tocher, D. R., Mourente, G., Van der Eecken, A., Evjemo, J. O., Diaz, E., Bell, J. G., Geurden, I., Lavens, P., Olsen, Y. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition*, 8: 195 – 207.
- Tocher, D. R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41: 717 – 732.
- Urquhart, A. N., Koetsier, P. 2014a. Diet of a cryptic but widespread invader, the cintal weatherfish (*Misgurnus anguillicaudatus*) in Idaho, USA. *Western North American Naturalist*, 74: 92 – 98.
- Urquhart, A. N., Koetsier, P. 2014b. Low-temperature tolerance and critical thermal minimum of the invasive oriental weatherfish *Misgurnus anguillicaudatus* in Idaho, USA. *Transactions of the American Fisheries Society*, 143: 68 – 76.
- Vanhaecke, P., Vrieze, L. D., Tackaert, W., Sorgeloos, P., 1990. The use of decapsulated cysts of the Brine Shrimp *Artemia* as direct food for carp *Cyprinus carpio* L. larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21: 257 – 262.
- Verma, P. 1971. The early development of *Cyprinus carpio var communis* (Linn.). *Cells Tissues Organs*, 80: 388 – 417.
- Wang, Y. Hu, M., Wang, W., Cao, L., Yang, Y., Lü, B., Yao, R. 2008a. Transpositional feeding rhythm of loach *Misgurnus anguillicaudatus* from larvae to juveniles and its ontogenesis under artificial rearing conditions. *Aquaculture International*, 16: 539 – 549.

- Wang, Y., Hu, M., Cao, L., Yang, Y., Wang, W. 2008b. Effects of daphnia (*Moina micrura*) plus Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*) or microparticle diets on growth and survival of larval loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture International*, 16: 361 – 368.
- Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Cao, L. 2009a. Effects on growth and survival of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) larvae when co-fed on live and microparticle diets. *Aquaculture Research*, 40: 385 – 394.
- Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S. G., Shin, P. K. S., Song, L. 2009b. Effects of GnRHa (D-Ala6, Pro9-NEt) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture*, 291: 136 – 139.
- Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Cheung, S. G., Shin, P. K. S., Cao, L. 2010. Effects of the timing of initial feeding on growth and survival of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) larvae. *Aquaculture International*, 18: 135 – 148.
- Wang, A., Yang, W., Shen, Y., Han, G., Lv, F., Yu, Y., Huang, J., Zhang, J. 2015. Effects of dietary lipid levels on growth performance, whole body composition and fatty acid composition of juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Research*, 46: 2819 – 2828.
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 185 – 207.
- Wen-Juan, Y., Dong, H., Xiao-Ming, Z., Yun-Xia, Y., Shou-Qi, X. 2014. Effect of dietary protein level on growth and feed utilization of juvenile *Misgurnus anguillicaudatus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 38: 571 – 575.
- Wirth, M., Steffens, W., Meinelt, T., Steinberg, Ch. 1997. Significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Fett/Lipid*, 99: 251 – 253.
- Yan-ping, L. U. O. 2009. Study on suitable protein requirement in feedstuff for *Misgurnus anguillicaudatus* juvenile. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 18: 81 – 96.
- Zhang, J., Yang, R., Yang, X., Fan, X., Fan, Q., Wei, K., Wang, W. 2014. Ontogeny of the digestive tract in mud loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae. *Aquaculture Research*, 47: 1180 – 1190.

- Zhang, Y., Qiao-Wan, W., Hu, W., Fan, W., Zhong-Bo, Z., Hui, H. 2015. Changes in digestive enzyme activities during larval development of Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus* (Dabry de Thiersant, 1872). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41: 1577 – 1585.
- Zięba, G., Copp, G. H., Davies, G. D., Stebbing, P., Wesley, K. J., Britton, J. R. 2010. Recent releases and dispersal of non-native fishes in England and Wales, With emphasis on sunbleak *Leucaspis delineatus* (Heckel, 1843). *Aquatic Invasions*, 5: 155 – 161.
- Žák, J. 2015. Vliv hormonálního preparátu na úspěšnost indukovaného umělého výtěru piskoře pruhovaného *Misgurnus fossilis*. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav akvakultury.

## 9. SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha č. 1: Piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*) s detailem rozmístění 5 párů vousků kolem ústního otvoru
- Příloha č. 2: Požerákové zuby piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*)
- Příloha č. 3: Čerstvě vykulené eleuterembryo piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*)
- Příloha č. 4: Injikace samice piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) suspenzí dehydratované kapří hypofýzy a fyziologického roztoku do hřbetní svaloviny
- Příloha č. 5: Výtěr samice piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) suchou metodou do misky pomocí masáže břišní partie
- Příloha č. 6: Odběr vytřeného spermatu samce piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) do injekční stříkačky pomocí opakované masáže kaudální části břišní partie
- Příloha č. 7: Osemenění směsného vzorku vytřených jiker piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) odebraným spermatem
- Příloha č. 8: Experimentální systém sestavený na principu recirkulačního akvakulturního systému zahrnujícího 3 horní zásobní nádrže, 39 odchovných nádrží umístěných ve dvou řadách a 3 spodní sběrné nádrže
- Příloha č. 9: Jednotlivé průtočné odchovné nádrže s nasazenými larvami/juvenily piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) vybavené přepážkou se sítím, která bránila larvám uniknout z nádrže do odpadu
- Příloha č. 10: Larvy piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*). A – larva při zahájení mixogenní výživy ve věku 6 dPH; B – larva z hladové kontroly (skupina I) ve věku 13 dPH

Příloha č. 11: Piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*) ve věku 48 dPH. A – při ukončení co-feedingu ve věku 33 dPH; B – při ukončení co-feedingu ve věku 18 dPD



Příloha č. 1: Piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*) s detailem rozmístění 5 párů vousků kolem ústního otvoru (Foto: P. Franta).



Příloha č. 2: Požerákové zuby piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) (Foto: P. Franta)



Příloha č. 9: Čerstvě vykulené eleuterembryo piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) (Foto: P. Franta).



Příloha č. 4: Injikace samice piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) suspenzí dehydratované kapří hypofýzy a fyziologického roztoku do hřbetní svaloviny (Foto: P. Franta).



Příloha č. 5: Výtěr samice piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) suchou metodou do misky pomocí masáže břišní partie (Foto: P. Franta).



Příloha č. 6: Odběr vytřeného spermatu samce piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) do injekční stříkačky pomocí opakované masáže kaudální části břišní partie (Foto: V. Borůvka).





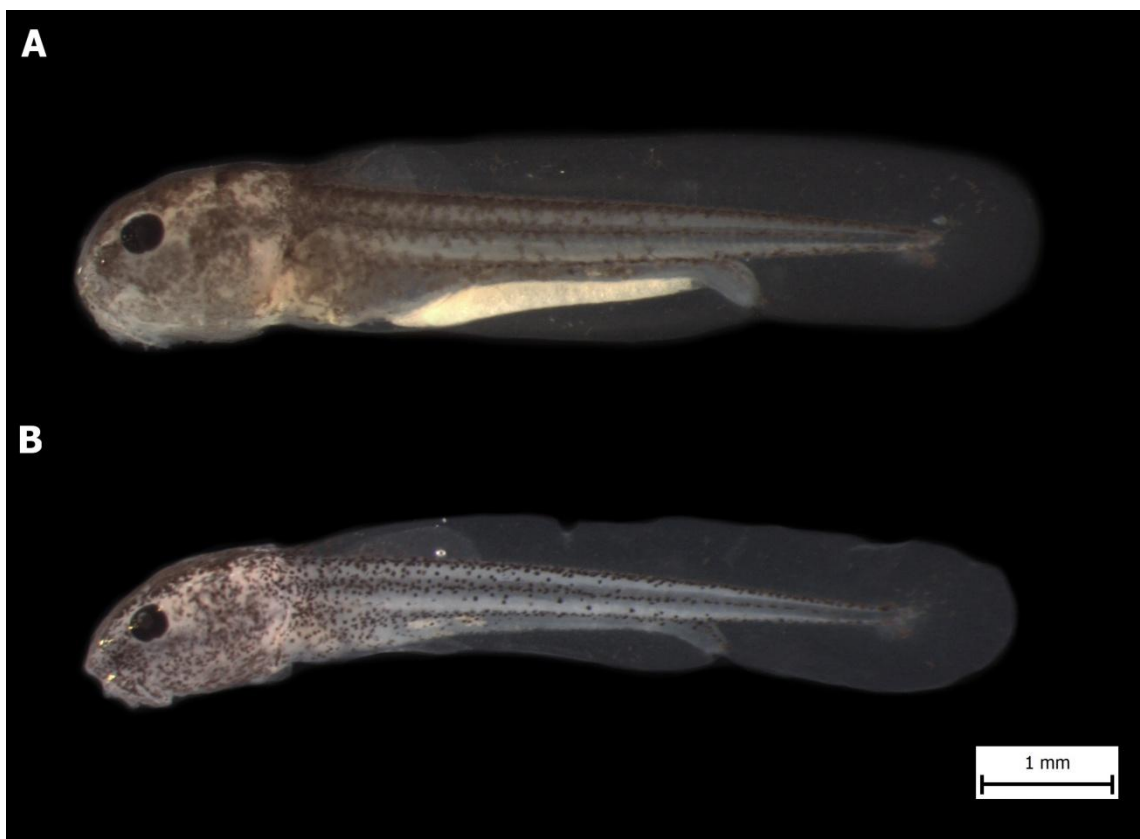
Příloha č. 7: Osemenění směsného vzorku vytřených jiker piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) odebraným spermatem (Foto: P. Franta).



Příloha č. 8: Experimentální systém sestavený na principu recirkulačního akvakulturního systému zahrnujícího 3 horní zásobní nádrže, 39 odchovných nádrží umístěných ve dvou řadách a 3 spodní sběrné nádrže (Foto: P. Franta).



Příloha č. 9: Jednotlivé průtočné odchovné nádrže s nasazenými larvami/juvenily piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) vybavené přepážkou se sítí, která bránila larvám uniknout z nádrže do odpadu (Foto: P. Franta).



Příloha č. 10: Larvy piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*). A – larva při zahájení mixogenní výživy ve věku 6 dPH; B – larva z hladové kontroly (skupina I) ve věku 13 dPH (Foto: P. Franta).



Příloha č. 11: Piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*) ve věku 48 dPH. A – při ukončení co-feedingu ve věku 33 dPH; B – při ukončení co-feedingu ve věku 18 dPH (Foto: P. Franta).

## 10. ABSTRAKT

### Odchov plůdku piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) v umělých podmínkách

Cílem diplomové práce bylo ověření možnosti převodu larev piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) z živé potravy na suchou startérovou směs pomocí metody tzv. co-feedingu. Experiment zahrnoval 3 kontrolní skupiny (hladová kontrola – nebyla krmena; negativní kontrola – krmena pouze suchou startérovou směsí; pozitivní kontrola – krmena pouze živou potravou) a 10 experimentálních skupin s 5 různými termíny ukončení co-feedingu (ve věku 13, 18, 23, 28 a 33 dní po vylíhnutí - dPH) a různou délkou co-feedingu (1 a 7 dní). Pokus probíhal od 6 dPH, kdy došlo k zahájení mixogenní výživy, do stáří 48 dPH při teplotě vody  $17,8 \pm 0,7$  °C. Hodnocen byl vliv termínu ukončení a délky periody co-feedingu na průběžné přežívání, morfometrické i gravimetrické parametry a na podíl makrobiogenních prvků a spalného tepla v somatických tkáních larev/juvenilů. S prodlužujícím se termínem ukončení co-feedingu se zvyšovalo průběžné přežívání, hodnoty dosažených morfometrických i gravimetrických parametrů a celkový obsah uhlíku a dusíku v somatických tkáních larev/juvenilů. Bez ohledu na zvolený krmný režim v jednotlivých skupinách, doprovázel odchov larev piskoře pruhovaného výrazný pokles přežívání v období 13 až 20 dPH. Nejhorší výsledky průběžného přežívání a růstu v rámci krmených skupin byly zaznamenány v negativní kontrole a ve skupinách s ukončením co-feedingu ve věku 13 dPH. Jedinci v těchto skupinách uhynuli ve věku 41 dPH. Nejvyšších hodnot průběžného přežívání dosahovali na konci pokusu jedinci v pozitivní kontrole a skupinách s ukončením co-feedingu ve věku 23, 28 a 33 dPH. Tyto skupiny se navzájem od sebe signifikantně nelišily. Velmi dobrých výsledků z hlediska morfometrických a gravimetrických parametrů bylo dosaženo ve skupinách s ukončením co-feedingu ve věku 28 a 33 dPH. Avšak pouze při ukončení co-feedingu ve věku 33 dPH bylo dosaženo srovnatelných hodnot morfometrických parametrů jako v pozitivní kontrole. Výjimkou byla pouze výška těla společně s hodnotami suché a mokré hmotnosti, které byly v pozitivní kontrole prokazatelně vyšší než v ostatních skupinách. Délka periody co-feedingu (1 či 7 dní) neměla vliv na žádný ze sledovaných ukazatelů. Z výsledků DP dále vyplývá, že plůdek piskoře pruhovaného nejlépe prospívá na živé potravě a naopak nelze jej odchovávat pouze pomocí suché startérové směsi. Z testovaných metod využívajících co-feeding lze doporučit převod larev pomocí

co-feedingu s ukončením ve věku 33 dPH, při kterém jsou výsledky průběžného přežívání a délkového růstu srovnatelné s režimem využívající pouze živou potravu.

**Klíčová slova:** Co-feeding, Piskoř, Raný převod, Raný vývoj, Suchá krmná směs, Přežívání, Růst, Výživa

## 11. ABSTRACT

### **Rearing of weatherfish (*Misgurnus fossilis*) fry in artificial condition**

The aim of the M.Sc. thesis was to verify possibility of weaning weatherfish larvae (*Misgurnus fossilis*) from the live food to the dry starter mixture using the method of co-feeding. The experiment included 3 control groups (starved control – no feeding; negative control – fed exclusively with dry starter mixture; positive control – fed exclusively with live food) and 10 experimental groups with 5 different dates of termination of co-feeding period (at the age 13, 18, 23, 28 and 33 days post-hatching – dPH) and different duration of co-feeding period (1 and 7 days). The experiment lasted from the 6 dPH, when mixed feeding was initiated, until the age 48 dPH at the temperature of  $17,8 \pm 0,7$  °C. The effects of termination and duration of co-feeding period upon continuous survival, morphometric and gravimetric characteristics, ratio of macrobiogenic elements and gross caloric value in somatic tissues of larvae/juveniles were evaluated. Continuous survival, morphometric and gravimetric characteristics and total content of carbon and nitrogen in somatic tissues of larvae/juveniles were increasing with extending dates of termination of co-feeding period. The rearing of weatherfish larvae was accompanied by the marked decline of survival in the period 13 – 20 dPH, regardless of selected diet regimes in individual groups. Within all fed groups, the worst results of continuous survival and growth were recorded in the negative control as well as groups with date of co-feeding period termination at age 13 dPH. All individuals in these groups died at age 41 dPH. At the end of the experiment, the highest values of continuous survival were achieved in the positive control as well as groups with dates of co-feeding period termination at age 23, 28 and 33 dPH, respectively. There was no significant statistical difference among these groups. Very good results in terms of morphometric and gravimetric characteristics were achieved in the groups with dates of co-feeding period termination at age 28 and 33 dPH, respectively. However, only in group with date of co-feeding period termination at age 33 dPH were achieved comparable values of morphometric characteristics with the positive control. The exception formed only values of the body height as well as dry and wet weights which were significantly higher in the positive control compared to other fed groups. The duration of the co-feeding period (either 1 or 7 days) did not affect any of the monitored characteristics. The results of the present thesis also show that the weatherfish fry best prospers on live food and, on the contrary, fry can not be reared

using dry starter mixture as a sole food source. To sum up, among all tested groups that use co-feeding, only weaning of larvae with the date of co-feeding termination at age 33 dPH could be advised. In such condition the continuous survival rate as well as length growth reach comparable values with group exclusively fed by live food.

**Key words:** Co-feeding, Weatherfish, Early weaning, Early life history, Dry starter mixture, Nutrition, Survival, Growth