

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Bakalářská práce:

**Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční
účinnost nauplií *Artemia salina* pro
halančíka rýžovištního *Oryzias latipes***

Autor bakalářské práce: Petr Hulan

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Zdeněk Adámek, CSc.

Konzultant: Ing. Pavel Vejsada, CSc.

České Budějovice

Květen 2010

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta
Katedra rybářství a myslivosti
Akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petr HULAN**

Studijní program: **B4103 Zootechnika**

Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií
Artemia salina pro halančíka rýžovištního *Oryzias latipes***

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

Nutriční účinnost hluboce zamrazeného a opakovaně rozmrazeného zooplanktonu je často zpochybňována, avšak konkrétní údaje o změnách ve složení živin a nutriční účinnosti takto znehodnoceného krmiva chybí.

Cílem práce bude vyhodnotit nutriční účinnost opakovaně rozmrazených nauplií *Artemia salina* a změny jejich chemického složení na základě růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*. Jako kontrola budou sloužit vzorky nauplií trvale hluboce zamrazených za konstantních podmínek. Před zahájením pokusu a po jeho skončení bude ve vzorcích krmiv (artemie) stanoveno jejich složení s ohledem na obsah živin, aminokyselin a mastných kyselin.

Rozsah grafických prací: podle potřeby s ohledem na výsledky
Rozsah pracovní zprávy: 30 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

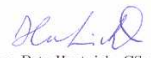
- Adámek Z., Helešic J., Maršálek B., Rulík M., 2008: Aplikovaná hydrobiologie, VÚRH JU Vodňany, 305 s.
Eliáš J., 2004: Parmička dvojskvrnná "Barbus" bimaculatus (Bleeker, 1884). AT 48(4): 20-25
Halver J., 1994: Fish nutrition. Blackwell Science, London, 417 s.
Adámek Z., 1999: Biologie halančička *Oryzias latipes* a metodika jeho chovu pro toxikologické testy. In: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí, Soláň: 77-82

Vedoucí bakalářské práce: doc. RNDr. Zdeněk Adámek, CSc.
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Konzultant bakalářské práce: Ing. Pavel Vejsada, Ph.D.
Katedra rybářství a myslivosti
Datum zadání bakalářské práce: 18. listopadu 2008
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2010

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Miroslav Šoch, CSc.
děkan

L.S.


doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 25. března 2009

PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU (viz. opatření rektora R 83). Zveřejnění je elektronickou formou v databázi STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

Květen 2010

.....
Petr Hulan

Poděkování

Na tomto místě chci poděkovat především vedoucímu mé bakalářské práce doc. RNDr Zdeňkovi Adámkovi, CSc za spolupráci, trpělivost, ochotu a odbornou pomoc při zpracování této práce. Dále mé poděkování patří mému konzultantovi Ing. Pavlu Vejsadovi, CSc a všem ostatním spolupracovníkům. Děkuji i Dr. Ing. Jaromíru Kadlecovi a ostatním členům katedry genetiky, šlechtění a výživy zvířat, kteří se podíleli na zpracování vzorků.

Taktéž děkuji své rodině a přítelkyni Monice, kteří poskytli vhodné zázemí nejen pro napsání bakalářské práce, ale i v dosavadním studiu.

Obsah:

Úvod.....	8
1. Literární přehled.....	10
1.1 Japonská medaka.....	10
1.1.1 Modelový organismus – <i>Oryzias latipes</i>	10
1.1.2 Popis druhu	10
1.1.3 Systematické zařazení	11
1.1.4 Rozšíření	13
1.1.5 Potrava	13
1.1.6 Pohlavní dimorfismus	14
1.1.7 Ekologie	15
1.1.8 Chov	15
1.1.9 Přirozená mortalita v průběhu embryonálního vývoje halančíků	17
1.2 Potrava ryb	18
1.2.1 Požadavky ryb na živiny	18
1.2.1.1 Lipidy	18
1.2.1.2 Proteiny a aminokyseliny	21
1.2.1.3 Sacharidy	23
1.2.1.4 Popeloviny (obsah minerálních látek).....	24
1.2.2 Zaživací procesy ryb	26
1.2.2.1 Fyzikální proces	26
1.2.2.2 Chemický proces	26
1.2.2.3 Enzymatický proces	27
1.2.3 <i>Artemia salina</i>	27
1.2.3.1 Popis.....	27
1.2.3.2 Formy používané v akvakultuře.....	29

1.2.3.3 Biochemické složení artemie	31
1.2.4 Srovnání planktonu a artemie.....	32
1.2.5 Vliv zmrazení na hodnotu krmiva.....	33
2. Materiál a metodika.....	35
2.1 Generační ryby a metodika jejich chovu.....	35
2.1.1 Výtěr generačních ryb a odběr jiker.....	37
2.1.2 Odlov embrya a nasazení do pokusu.....	38
2.2 Příprava živé potravy	38
2.2.1 Příprava krmiva	39
2.3 Průběh pokusu.....	39
2.4 Příprava krmiva k chemickým rozborům.....	40
2.5 Použité statistické metody.....	40
3. Výsledky	41
3.1 Pokus prováděný v termínu 5. 5. – 15. 6. 2009.....	41
3.2 Pokus prováděný v termínu 17. 9. 2009 – 24. 1. 2010.....	43
3.3 Porovnání výsledků obou pokusů	45
3.4 Složení pokusných diet	46
3.4.1 Krmiva – artemie.....	46
3.4.2 Ryby	48
4. Diskuse.....	49
Závěr	51
Seznam použité literatury.....	53
Seznam zkratk:	60
Seznam obrázků, grafů a tabulek:	61
Souhrn	62
Přílohy:.....	64

Úvod

Práce se zabývá nutriční účinností hluboce zamrazeného a opakovaně rozmrazeného zooplanktonu. Nutriční účinnost jakožto „znehodnoceného krmiva“ je často zpochybňována, avšak konkrétní údaje o změnách ve složení živin a nutriční účinnosti chybějí.

Cílem práce je vyhodnocení nutriční účinnosti opakovaně rozmražených nauplií žábřonožky solné, *Artemia salina*, a změny jejich chemického složení. Nutriční účinnost i změny chemického složení jsou zkoumány na růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního, *Oryzias latipes*.

Oryzias latipes – japonská medaka neboli halančík rýžovištní, je drobná ryba patřící mezi oviparní, neanuální, sladkovodní ryby „halančíky“ čeledi Adrianichthyadae. Medaka je využívána jako akvariální ryba, ale její stěžejní uplatnění je nepochybně i v oblasti laboratorní a experimentální práce.

Samostatný druh *Oryzias latipes* žije v Japonsku, Koreji a Číně. V Japonsku se vyskytuje všude, kromě ostrova Hokkaidó a nachází se též na Taiwanu.

Správná výživa je jedna z nejdůležitějších potřeb ryb. Ryby vyžadují bílkoviny, tuky, sacharidy, minerály, vitamíny a vodu, podobně jako ostatní živočichové. Z bílkovin ryby tvoří svalovou hmotu, buňky a tkáně. Sacharidy poskytují energii, naopak minerály a vitamíny umožňují rybám lepší apetit, odolnost proti chorobám a zpevňují jejich kostru.

Vajíčka žábřonožky solné, *Artemia salina*, se k nám dovážejí v konzervách. Neotevřená konzerva vajíček má být uložena v chladu a suchu. Líhivost zárodků z trvalých vajíček je zaručena zhruba jeden rok. Z jedné konzervy lze získat až několik milionů žábřonožek, u nichž je zaručena vysoká homogenita – stejné vlastnosti. Nauplie v instaru I a II jsou pravděpodobně nejvíce používaná forma artemie v akvakultuře.

Biomasa artemie může být také mražená, mrazem sušená, nebo vločkováná pro uložení a další použití s relativně malou ztrátou nutričního složení. Mražená forma je často komerčně prodávána v mnoha společnostech a byla již vyvinuta i automatická zařízení pro zkrmování mraženého zooplanktonu včetně artemie (AquaTech Kitzbühel, Německo).

Proces zažívání je koordinován kombinací fyzikálních, chemických a enzymatických aktivit, které začínají při příjmu krmiva a končí, když jsou z řitě vypuštěny výkaly. Do fyzikálních procesů se zařazuje prorážení, drcení a mixování. Sekrece kyselin v žaludku je chemický proces, kterému pomáhají hydrolázy a destrukce komponentů. Enzymatické procesy jsou specifitější pro molekulární destrukcí proteinů, lipidů a karbohydrátů a zahrnují velké množství enzymů.

1. Literární přehled

Následující kapitola podává přehled o výskytu a chovu halančíka rýžovištního, *Oryzias latipes*. Dále se podrobně zabývá výživou ryb formami využívanými v akvakultuře. V jejím závěru jsou informace o trávicích procesech ryb.

1.1 Japonská medaka

(Sikora, 2008)

Kapitola 1.1 vychází z diplomové práce Jiřího Sikory s názvem *Využití biotestů na jikrách Oryzias latipes pro screeningové stanovení toxicity vod s výskytem sinicových vodních květů*, avšak je pozměněn vložený obrazový materiál.

1.1.1 Modelový organismus – *Oryzias latipes*

(Temminck and Schleger, 1846)

Oryzias latipes – japonská medaka neboli halančík rýžovištní, je drobná ryba patřící mezi oviparní, neanuální, sladkovodní ryby „halančíky“ čeledi Adrianichthyadae. Velikost dospělých ryb se pohybuje mezi 2 – 4 cm (Kirchen a West, 1969). Stavba těla je typu Epiplatys, ale zavalitější (Vítek a Kadlec, 2001).

Medaka je využívána jako akvarijní ryba, ale její stěžejní uplatnění je nepochybně v oblasti laboratorní experimentální práce a zvláště v posledních letech je patrný nárůst zájmu o její využití v embryotoxikologii v souvislosti se zvýšeným tlakem na uplatnění zásad animal welfare (Adámek, 1999).

1.1.2 Popis druhu

(Oshima, 1919)

Poměr délky těla : délce hlavy činí 4;

Poměr délky těla : šířce hlavy činí 4,5;

Poměr délky těla : šířce v místě ocasního násadce činí 9,5;

Poměr délky hlavy : průměru oka činí 2,5;

Poměr délky hlavy : délce interorbitální mezery činí 2;

Poměr délky hlavy : délce rypce činí 4.

Ploutevní vzorec : D6; A18; P9; V5

V postraní čáře je 31 šupin.

Tělo se kaudálním směrem bilaterálně zplošťuje. Nejvyšší je v mediální části těla před urogenitální papilou. Hlava svrchu zploštělá. Interorbitální mezera široká. Rypce je kratší než průměr oka, zepředu široce zaoblený. Široká tlamka má přední postavení. Spodní čelist je mírně přečnívající přes horní. Na každé čelisti jsou dvě řady ostrých zubů. Zuby v zadní řadě jsou menší. Na prvním žaberním oblouku se nachází 13 krátkých a špičatých žaberních tyčinek. Oči jsou velmi velké s předním až horním očním polem. Hřbetní ploutev je krátká, nacházející se kaudálně od transverzální roviny těla. Její báze je nad zadními dvěma třetinami ploutve anální. Její výška je rovna vzdálenosti mezi špičkou rypce a zadním okrajem očnice. Prsní ploutve jsou ve středové linii těla těsně za hlavou. Břišní ploutve jsou na vertikální části trupu a jejich konce dosahují až k řitnímu otvoru. Báze řitní ploutve je velice dlouhá. Zadní konec řitní ploutve dosahuje stejné úrovně v kolmici jako nejdelší přední paprsek ploutve hřbetní. Ocasní ploutev je rovně zakončena, může zde být náznak mírného vykrojení. Celý trup je pokryt cykloidními šupinami s výjimkou hlavy a hrdelní části.

Zbarvení

Divoká populace: horní část těla tmavě hnědavá, spodní část těla stříbřitá. Od týlu až k bázi hřbetní ploutve se táhne černý proužek. Boční strany těla jsou jemně kouřové. Horní část hlavy tmavě hnědá. Okraje šupin rovněž tmavé. Paprsky břišní a řitní ploutve jsou nepatrně černě tečkované. Peritoneum je černé.

1.1.3 Systematické zařazení

Aktuální systematické zařazení dle Eschmeyera (2004)

Nadtřída	Osteichthyes
Třída	Actinopterygii
Podtřída	Neopterygii
Pom. podtřída	Teleostei
Nadřád	Acantopterygii

Řád	Beloniformes
Podřád	Adrianichthyoidei
Čeleď	Adrianichthyidae
Podčeleď	Oryziinae
Rod	Oryzias
Druh	Oryzias latipes (Temminck and Schlegel, 1846)

Obsah pojmu halančík, kam byl historicky halančík rýžovištní zařazen, se postupně měnil a ani dnes není u různých autorů zcela shodný. Je to dáno novými pohledy na zařazování druhů do systému. Například Rosen v roce 1964 rozdělil halančíky do pěti čeledí a to podle způsobu rozmnožování. Další, kdo vytvořil jiný systém, byla Parentiová v roce 1981, která však považovala způsob rozmnožování z hlediska zařazení do systému za druhotný. Svůj systém založila na základě stavby kostry. Nejnověji pak byla zpracována systematika ryb Eschmeyerem v letech 1998 až 2000. Ten principiálně vychází ze systému Parentiové (Vítek a Kadlec, 2001).

Koncem devadesátých let došlo v systematicce halančíků k velmi závažným změnám. Jejich výsledkem jsou nová vědecká pojmenování asi 1/3 druhů, která vycházejí z několika revizí. Nejvýznamnější jsou Costova revize (Costa 1998), Hubertova revize (Huber, 2000) a seznam druhů dle Lazary (Lazara, 2000).

Jak je to tedy s „halančíkem“ rýžovištním? Podle původního zařazení, právě dle Rosena z roku 1964 spadala podčeleď Oryziatinae do čeledi Cyprinodontidae a řádu Atheriniformes. Připadal tedy k čeledi halančíkovití.

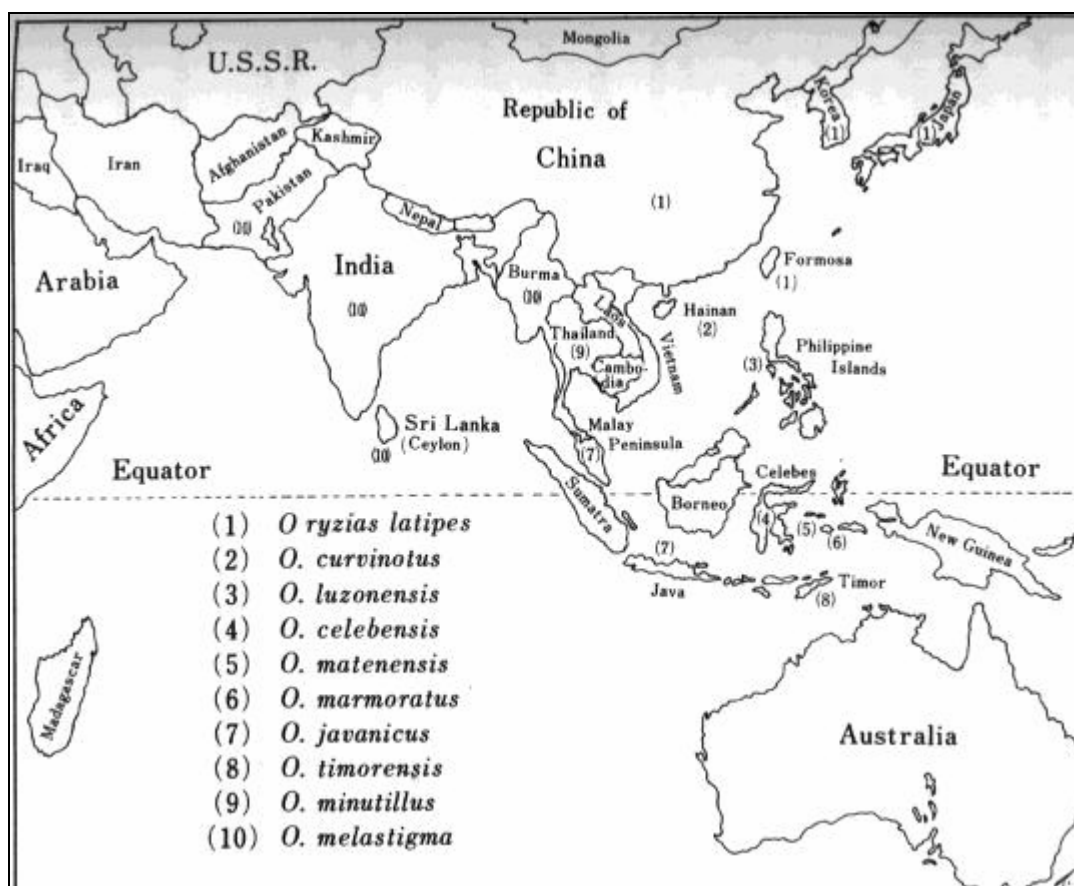
Podle nového systému dle Escheyera 1998 – 2000 je vyřazen z řádu Cyprinodontiformes. Spadá do nového řádu Beloniformes, čeledi Adrianichthyidae a podčeledi Oryziinae.

Je ovšem zapotřebí uvést, že v evropské chovatelské praxi jsou právě „rýžové ryby“ nadále považovány za halančíky (Vítek a Kadlec, 2001).

1.1.4 Rozšíření

Rod *Oryzias* je rozšířen od Indie a Indonésie přes Filipíny až po Japonsko a Čínu (Vítek a Kadlec, 2001)

Samostatný druh *Oryzias latipes* žije v Japonsku, Koreji a Číně (Temminck a Schleger, 1846). V Japonsku se nenachází na ostrově Hokkaidó. Nachází se též na Taiwanu (Naruse, 1996). Areál rozšíření ukazuje obrázek 1.



Obr. 1: Areál rozšíření rodu *Oryzias* /zdroj internet:

<http://www.bio.nagoyau.ac.jp:8000/Tax4.jpeg/>

1.1.5 Potrava

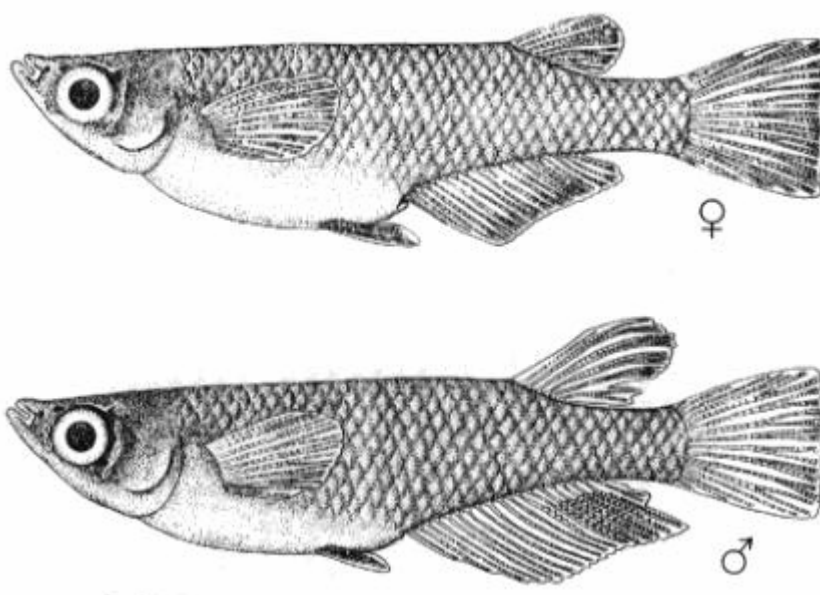
Medaka je omnivor, bere jak rostlinné, tak živočišné krmivo. Jako hlavní krmivo jsou nepochybně vodní červi (*Tubifex*, *Limnodrilus*) a bílí červí (*Enchytraeus*). Ideální potrava pro obě pohlaví a mladší ryby jsou vodní korýši (*Entomostraca*) a nauplie žábřonožky solné (*Artemia salina*). Z vodních korýšů byla určena jako nejlepší *Moina macrocopa*. Ta je menší než *Daphnia*, takže je ryby snadno přijímají. I když dospělci *Moina* nemohou být krmeni larvám, je doporučeno je dát do

odchovné nádrže, protože drobné larvy *Moina*, které jsou partenogenezi produkovány, jsou snadněji přijímány juvenilními rybami.

Pro čerstvě vylíhlý plůdek je adekvátní krmit větší protozoa speciálně *Paramecium caudatum*. U obvykle chovaných ryb má krmení živé potraviny prospěšné účinky. Nicméně medaka může prospívat i ze sušené potraviny, za předpokladu, že je ve vodě dostatek jednobuněčných zelených řas. (Yamamoto, 1975)

1.1.6 Pohlavní dimorfismus

Průměrná celková délka a hmotnost samic v pozorování generačních ryb v pokusu prováděném na VÚRH JU ($n = 111$) činila $30,6 \pm 3,1$ (21 – 36) mm a 411 ± 92 (262 – 630) mg. Samci ($n = 73$) byli poněkud větší a dosahovali v průměru $31,6 \pm 3,1$ (24 – 36) mm a 436 ± 68 (274 – 541) mg. Tento rozdíl však nebyl signifikantní ($P > 0,05$), (Adámek, 1999). Kromě velikostních rozdílů je sekundární pohlavní diference patrná i morfologicky. Projevuje se na řitní a hřbetní ploutvi. Jejich okraje nejsou u samic celistvé, u starších ryb jsou jako by roztřepené. Na obou ploutvích jsou mezi posledními dvěma paprsky patrné zářezy, které slouží k vzájemnému přichycování ryb při tření (Kirchen a West, 1969). Také se uvádí, že je možné pohlaví odlišit podle objemnosti břicha. Adámek (1999) však uvádí, že tato metoda nemusí být vždy spolehlivá, obzvláště po nakrmení ryb. Zbarvení divoké formy je nenápadné a velmi podobné pro obě pohlaví, avšak v laboratorních podmínkách byla vyšlechtěna celá řada barevných mutací. Pohlavní dimorfismus je patrný na obrázku 2.



Obr. 2: Pohlavní dimorfismus medaky japonské (Yamamoto, 1975)

1.1.7 Ekologie

Oblíbeným biotopem této ryby jsou rýžová pole, odtud anglický název „ricefish“ (rýžová ryba). Obývá však různé stojaté a pomalu tekoucí, hlavně prosluněné potoky a řeky. Žijí v malých skupinách připomínající svým chováním tetrovité ryby (Vítek a Kadlec, 2001).

O. latipes je tolerantní k určité salinitě, protože jeho habitatem jsou i přílivové oblasti a tůň v Koreji a na japonském ostrově Kjúšú (Yamamoto, 1975).

1.1.8 Chov

Teplota a kyslík

Z hlediska chovatelského jsou medaky velmi odolné ryby již v raných vývojových stádiích. Přežívají i velmi nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku a široký teplotní rozsah. Podle literárních údajů snášejí jikry pokles teplot až na 7° C, vzrůst nad 30° C po dobu delší jak 24 hodin je však letální i pro adulty (Kirchen a West, 1969).

Výtěr

Výtěr medak se může provádět buď ve společné nádrži, nebo v malých vytíracích nádržkách o objemu okolo 1 až 2 litrů. Pokud vytíráme v malých vytíračkách, dáváme do jedné jednoho samce a dvě samice, nebo i vyrovnaný poměr, pokud jsme si jisti, že samec není příliš agresivní.

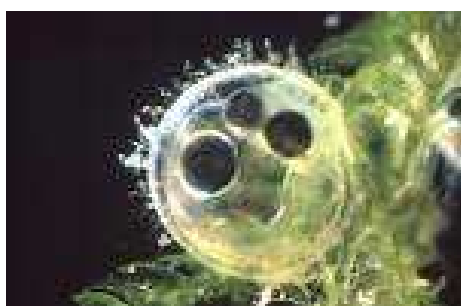
Pro halančíky je typické, že neodkládají celou snůšku jiker najednou, ale kladou postupně několik jiker denně, takže třecí období bývá relativně dlouhé a u mnohých druhů trvá prakticky po celou dobu dospělosti. To je typické chování právě *Oryzias latipes* (Vítek a Kadlec, 2001).

Samice produkují v jednotlivých reprodukčních obdobích až 3 000 i více jiker. Za normální světelné periody dochází k výtěru při rozednávání. Jikry lze snadno odebírat a zároveň znát poměrně přesně jejich stáří v hodinách (Egami, 1959). Samice kladou obvykle 10 – 30 jiker (1 – 70) o průměru 1 – 1,5 mm v jedné dávce (Kirchen a West, 1969). Rugh (1962) došel k mírně odlišným výsledkům: samička klade 1 – 80 jiker denně (průměr 20 – 30), tj. za celé třecí období naklade okolo 500 až 800 jiker. Samičí plodnost je přímo úměrná velikosti těla. U samců tento vztah neplatí.

Za přirozených podmínek je diurnální fotoperiodicita primárním řídicím faktorem výtěru a její význam je větší než je tomu v případě teploty. Dokazují to výsledky sledování Adámkem (1999): při zkrácení délky světelné části dne pod 11 hodin se reprodukce zastavuje bez ohledu na teplotu. V rámci dostatečné délky trvání světelné periody nad 11 hodin je však intenzita reprodukce stimulována zvýšenou teplotou. Podle Kirchena a Westa (1969) lze při teplotách 25 – 28° C dosáhnout kontinuální produkce jiker.

Povrch neanuální jikry je pokryt shlukem kořínkových, lepivých vláken (obr. 3), která jsou velmi dlouhá a pružná. Povrch chorionu je poset drobnými póry o průměru kolem 0,001 mm, přičemž na mm² jich připadá 10 000 – 20 000 (Vítek a Kadlec, 2001). Žloutek malých jiker je lehce nažloutlá, téměř bezbarvá kapalina s olejovými kapénkami těsně pod jikernými obaly. Tyto drobné kapky se postupem raného embryonálního vývoje shlukují v jednu velkou kapénku na ventrální části embrya (Kirchen a West, 1969).

Jikry mají zcela transparentní obal s početnými vláčkem. Ta jsou spletena do vláken, upínajících celý chomáček jiker do vejcovodu samice. Takto zůstávají jikry u samice po dobu minimálně několika hodin. Po určité časové prodlevě se samice pokouší setřít jikry do drobnolistých rostlin, nebo do připravených umělých vytíracích substrátů. Pokud však nemá možnost se do nich vytřít (nepřítomnost jakéhokoli substrátu), zbaví se jich přímo ve vodním sloupci a ty se pak vyvíjejí na dně (Adámek, 1999).



Obr. 3: Jikra *Oryzias latipes* s kořínkovými vlákny (Burgess, 2005)

1.1.9 Přírozená mortalita v průběhu embryonálního vývoje halančků

(Vítek a Kadlec, 2001)

Embryonální vývoj halančků je studován již více jak 100 let. Jedno z překvapujících zjištění bylo, že mortalita během embryonálního vývoje je vůči ostatním kostnatým rybám větší. Mortalita se u halančků pohybuje ve velkém rozsahu, a to od 5 do 98 %. Naproti tomu u ostatních kostnatých ryb je kolem 5 %

Mortalita embryí s ohledem na fázi vývoje

Z celkového počtu jiker *Nothobranchius guentheri* uhynulých do momentu líhnutí tvoří

1. 53,7 % jikry neoplozené
2. 42,9 % úhyn během blastogeneze
3. 1,7 % úhyn během embryogeneze
4. 1,7 % úhyn během organogeneze

Příčiny úhynu

Oplození: je složitý fyziologický proces, během kterého často dochází k úhynu jikry. K oplození musí dojít během několika minut po vypuzení jikry z těla samice. Chorion jikry pak přibližně během 6 hodin ztuhne.

Blastogeneze: druhá nejrizikovější fáze embryonálního vývoje je blastogeneze. Anomálie v této fázi může být: 1. prosté zastavení vývoje bez morfologických změn, které přejde ve smrt jikry, 2. zastavení vývoje zapříčiněné morfologickou změnou v jikře. U neanuálů (medaka) nastává hynutí často v období, kdy anuálové vcházejí do první diapauzy.

Embryogeneze: je nejkritičtější stadium pro vznik definitivního agregátu a páteřního kanálu.

Organogeneze: úmrtnost jiker je nízká. Kritická stádia jsou vývoj kosterní a srdečně-cévní soustavy.

Líhnutí: je kritická fáze. Pokud embrya nemají dostatečný impulz, může nastat zpožděné líhnutí, které pokud trvá příliš dlouho, vede ke vzniku tzv. „neplavců“

(Bellysliders), nebo k úhynu. „Neplavci“ („skokani“) jsou larvy, které nemají naplněný plynový měchýř a nemohou normálně plavat. Obvykle během několika dní hynou, jen výjimečně se „uzdraví“ a začnou normálně plavat.

1.2 Potrava ryb

Kapitola rozebírá skladbu a požadavky na potravu ryb. Podrobně se věnuje artemii, jejím formám, které jsou v akvaristice hojně využívány. Uváděné informace jsou čerpány z odborných publikací, ale i internetových stránek.

1.2.1 Požadavky ryb na živiny

Způsob přijímání potravy a její složení má samozřejmě vliv na celkovou tělesnou soustavu a umožňuje vznik různých speciálních přizpůsobení, adaptací, především v postavení úst, tvaru a vyzbrojení dutiny ústní zuby, popřípadě obklopení úst hmatovými vousky.

Správná výživa je jedna z nejdůležitějších potřeb ryb. Pokud se dává potravy příliš, nebo jen jeden druh, může se stát, že krmení budou ryby ignorovat. Cílem je maximálně napodobit krmení, kterým se ryby živí v přírodě.

1.2.1.1 Lipidy

Lipidy patří mezi hlavní energetické živiny, které plní ve výživě i řadu dalších funkcí.

Lipidy jsou složitou skupinou živin tvořenou tuky, mastnými kyselinami, vosky, lipoproteiny a dalšími látkami. Podle funkce v organismu jsou rozdělovány na složky buněčných membrán (cholesterol a fosfolipidy), energetický substrát (triacylglyceroly) a mastné kyseliny, které jsou především pohotovým a vydatným zdrojem energie. Podle jejich struktury je možné je rozdělit na lipidy jednoduché (mastné kyseliny, fatty acids – FA a volný cholesterol) a lipidy složené (esterifikovaný cholesterol, triacylglyceroly a fosfolipidy).

Přestože jsou tuky z pohledu jejich struktury jednou ze složek lipidů, v běžné odborné literatuře je používáno označení lipidy a tuky jako synonymum. Tuky jsou estery glycerolu s mastnými kyselinami. Mastné kyseliny jsou tvořeny různě dlouhým uhlíkovým řetězcem, jehož součástí mohou být dvojné vazby (nenasyčené mastné kyseliny, UFA – Unsaturated Fatty Acids). Pokud v řetězci dvojné vazby

nejsou, jde o mastné kyseliny nasycené (SFA – Saturated Fatty Acids). Mastné kyseliny se od sebe liší počtem uhlíků v řetězci, nenasycené pak i počtem dvojných vazeb a polohou první dvojně vazby od koncové metylové skupiny. Rybí tuk obsahuje FA s délkou uhlíkového řetězce od 14 do 24 C. Podle počtu dvojných vazeb se mastné kyseliny dělí na monoenoové (MUFA – Mono Unsaturated Fatty Acids) s jednou dvojnou vazbou (např. k. olejová 18 : 1 n-9), polyenoové (PUFA – Poly Unsaturated Fatty Acids) s více dvojnými vazbami (k.linolová 18 : 2 n-6) a vysoce nenasycené (HUFA - Highly Unsaturated Fatty Acids) se třemi a více dvojnými vazbami (k. α -linolenová 18:3 n-3).

Označení skupiny (n-3, n-6, n-9) označuje polohu (pořadí) uhlíku s první dvojnou vazbou (na třetím, šestém, devátém místě). Pro ryby jako poikiloternní živočichy je zastoupení nenasycených mastných kyselin s dlouhým uhlíkovým řetězcem v potravě esenciální. (Halver, Hardy, 2003)

Ryby, jako všichni ostatní studovaní obratlovci, potřebují tři dlouhé řetězce polynenasycených mastných kyselin (PUFA) pro svůj normální růst a vývoj, včetně reprodukce: Kyselina dokosaheptaenová (DHA, 22 : 6 n-3), eikosapentaenová kyselina (EPA, 20 : 5 n-3) a kyselina arachidonová (AA, 20 : 4 n-6) (Sargent et al., 1993; Sargent et al., 1995, 1997 a, b). Biochemické, buněčné a fyziologické funkce těchto tří PUFA jsou prakticky stejné u ryb jako u jiných obratlovců a dělí se podle významu pro organismus do dvou kategorií: (a) všeobecné role při udržování strukturální a funkční celistvosti buněčných membrán, (b) více specifické úlohy jako předchůdce skupiny vysoce biologicky aktivních hormonů paracrine, známé kolektivně jako eikosanoidy (účinné látky), prostaglandiny, tromboxany aj., podílející se v organizmu na řadě klíčových biologických funkcí (dýchání, činnost srdce, imunoaktivita aj.).

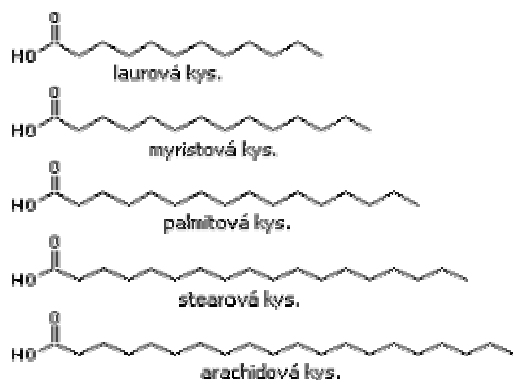
Ryby, stejně jako u suchozemských savců, DHA, EPA a AA, jsou spojené s udržováním buněčné membránové struktury a funkce. Nicméně v rybách jsou DHA a EPA, ale nikoli AA hlavní PUFA buněčných membrán, jak je tomu u terestrických savců. Výjimka tohoto tvrzení u terestrických savců jsou nervové tkáně včetně očí, kde DHA může být velmi hojně v některých buněčných membránách, obzvláště tyčinkových buněk vnějšího segmentu membrány a membrány synaptických křížovatek. Tyto buněčné membrány ryb jsou mimořádně bohaté na DHA. V důsledku toho tkáně ryb mají obecně mnohem vyšší koncentrace EPA a DHA než

AA a ryby mají adekvátně vysoké požadavky na stravu pro n-3 PUFA, situace odráží historicky na trhu důraz na DHA a EPA, tak-zvané 'n-3 HUFA', v rybí výživě.

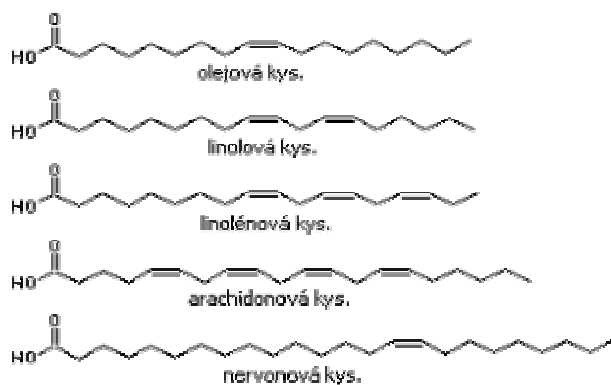
Ryby mají biochemické mechanismy, kterými dokáží zvyšovat nenasycenost FA (zvyšovat počet dvojných vazeb) a prodlužovat uhlíkové řetězce přijatých FA. To se děje v procesech označovaných jako desaturace a elongace. Nejsou však schopny měnit skupinu FA, tedy polohu první dvojně vazby. Proto ryby pro každou řadu mastných kyselin potřebují kyselinu, která je esenciální a od které se odvozují vyšší mastné kyseliny syntetizované v organismu. Jedná se o kyselinu olejovou, linolovou (LA) a α -linolenovou (ALA). (Lovell 1998). Strukturální vzorce výše uvedených mastných kyselin podává obr. 4.

Nedostatek esenciálních mastných kyselin se projevuje zvýšením mortality, depresí růstu, zhoršenou konverzí krmiva, výskytem deformací u plůdku, ztučněním jater, apatií a šokovými syndromy. U generačních ryb ovlivňuje i reprodukční ukazatele. (Halver, Hardy, 2003)

NASÝTENÉ MASTNÉ KYSELINY:



NENASÝTENÉ MASTNÉ KYSELINY:



Obr. 4: Strukturální vzorce mastných kyselin /zdroj internet:

<http://www.sciencegateway.org/resources/biologytext/lm/proteins/aa/aminoacids.gif/>

1.2.1.2 Proteiny a aminokyseliny

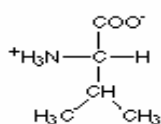
Aminokyseliny jsou strukturální komponenty proteinů. Základní struktura aminokyselin je znázorněna na obr. č. 5. Esenciální složka je karboxy skupina (-COOH) a amino skupina (-NH₂) na alfa atom uhlíku. Všechny mají základní strukturu, kde R je zbytek molekuly připojené na alfa uhlík. Aminokyseliny jsou propojeny peptidovou vazbou do formy proteinu. Protein obsahuje uhlík (50 – 55 %), vodík (6,5 - 7,5 %), dusík (15,5 – 18 %, předpokládaná hodnota je 16 %), kyslík (21,5 -25,5 %) a obvykle síru (0, 5 – 2 %).

Existuje 18 aminokyselin, které mohou být nalezeny ve většině rostlinných a živočišných proteinů, když protein obsahuje obvykle 22 - 24 aminokyselin. Aminokyseliny mohou být zařazeny do skupin podle série organických sloučenin.

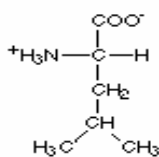
Typ proteinu obsažený v rybím těle je rozdělen na základě funkce nebo rozpustnosti. Vlákničný protein je vysoce nerozpustný protein a obsahuje kolagen, elastin a kreatin. Kolagen je komponent pojivové tkáně, kostní hmoty, kůže, tkáně jizvy, ploutve, žaberního víčka a cév. Elastin se nalézá v artériích, šlachách a ostatních pružných tkáních. Kreatin se v pozemských zvířatech vyskytuje ve vlasech a paznehtech, ale v malém množství se objevuje i u ryb. Kontraktilní bílkoviny jsou svalový proteinový komplex. Tři proteiny - aktin, tropomyosin B a myosin se zúčastňují svalové kontrakce. Bílkovinný protein je vysoce stravitelný a má vysoké nutriční hodnoty. Globulární bílkoviny jsou bílkoviny extrahovatelné vodou nebo roztokem soli. To jsou enzymy, bílkovinné hormony a proteiny krevního séra.

Aminokyseliny lze rozdělit do dvou nutričních skupin, esenciální a neesenciální. Esenciální jsou takové, které si zvíře nemůže syntetizovat v množství optimálním pro růst. Neesenciální jsou takové, které si zvíře může syntetizovat v dostatečné míře pro maximální růst za předpokladu, že amino dusík je dostupný. Všechna monogastrocká zvířata, včetně ryb, vyžadují 10 esenciálních aminokyselin; arginin, histidin, izoleucin, leucin, lyzin, methionin, phenilalanin, tryptofan a valin, ty mohou být nahrazeny jejich odpovídající α -hydroxi nebo α -keto analogem. (Lovell 1998). Struktury uvedených aminokyselin podává obr. 5.

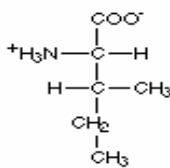
Amino acids with hydrophobic side groups



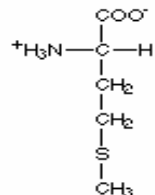
Valine
(val)



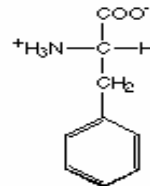
Leucine
(leu)



Isoleucine
(ile)

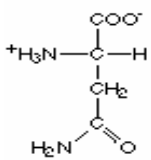


Methionine
(met)

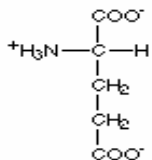


Phenylalanine
(phe)

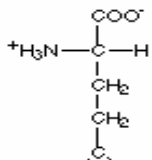
Amino acids with hydrophilic side groups



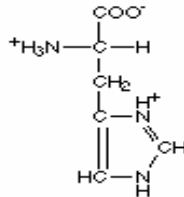
Asparagine
(asn)



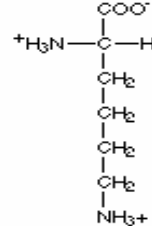
Glutamic acid
(glu)



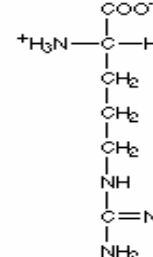
Glutamine
(gln)



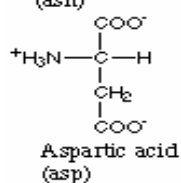
Histidine
(his)



Lysine
(lys)

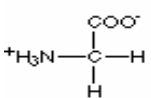


Arginine
(arg)

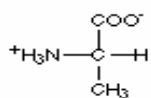


Aspartic acid
(asp)

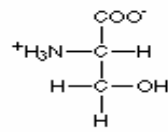
Amino acids that are in between



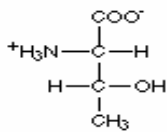
Glycine
(gly)



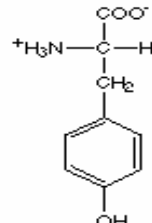
Alanine
(ala)



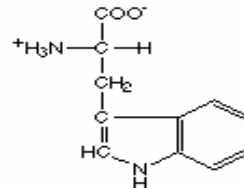
Serine
(ser)



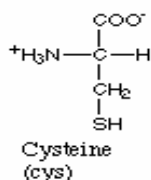
Threonine
(thr)



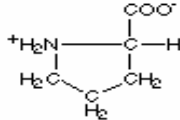
Tyrosine
(tyr)



Tryptophan
(trp)



Cysteine
(cys)



Proline
(pro)

Obr. 5: Strukturální vzorce aminokyselin /zdroj internet:

<http://www.sciencegateway.org/resources/biologytext/lm/proteins/aa/aminoacids.gif/>

Nevyváženost aminokyselin ve stravě

Častou chybou ve výživě je nedostatečné nebo naopak nadměrné množství bílkovin, které navíc mohou být obtížně stravitelné nebo mohou mít nevyváženou skladbu aminokyselin. Vzniká z toho jev zvaný disbalance (nevyváženost) aminokyselin. Nejnižší obsah nepostradatelné aminokyseliny určuje celkové množství vlastních bílkovin, které mohou být vybudovány, neboli pevnost řetězu určuje jeho nejslabší článek. Všechny ostatní aminokyseliny přijaté výživou jsou potom nadbytečné a

organismus se jich musí zbavit. Pokud disbalance esenciálních aminokyselin trvá delší dobu, může způsobit metabolické potíže, které se navenek nemusejí projevit, a nebo jejich projev může být přičítán jiným negativním vlivům. Disbalance aminokyselin je velmi běžná právě v „uzavřených chovech“, a snadno vznikne jednostrannou výživou nebo krmením jedním druhem umělého krmiva. Praktické výsledky ukazují, že pokud jsou dodány bílkoviny s vyváženým poměrem aminokyselin, může (někdy dokonce musí) být dávka bílkovin snížena až na polovinu.

Nedostatečné množství bílkovin

Při nedostatečném množství bílkovin klesá množství krevního albuminu (pohotovému zdroji bílkovin), rozvíjí se chudokrevnost, snižuje se imunita organismu, zhoršuje se činnost mozku. Organismus přesouvá bílkoviny mezi jednotlivými orgány, do míst s jejich větší potřebou. U mladých jedinců dochází k poruchám jak osvalení, tak i tvorby kostry, zejména obratlů (kost je z poloviny tvořena bílkoviny), případně celkovým poruchám vývoje. (Novák, 2008)

1.2.1.3 Sacharidy

Sacharidy jsou organické sloučeniny obsahující ve své struktuře uhlík, kyslík a vodík.

Jedná se o v přírodě nejrozšířenější organické sloučeniny vznikající v procesu fotosyntézy. Jsou označovány také jako cukry, glycidy, v minulosti pak uhlovodany nebo uhlohydráty (Mareš, 2000).

Sacharidy jsou typické pro krmiva rostlinného původu a nejsou pro výživu ryb esenciální. Pro rybí organismus jsou zdrojem energie, která se v organismu dočasně ukládá jako glykogen (živočišný škrob), a to v játrech a v menší míře ve svalovině, nebo ve formě tuku. Cukry se v těle ryb vyskytují kromě glykogenu ještě ve formě glukózy, která je pro živočichy zdrojem pohotové energie, a to v krvi a buněčném obsahu.

Mohou též sloužit jako pomocná uhlíková kostra neesenciálních mastných kyselin a následně pro syntézu tuků. *De novo* syntéza mastných kyselin C 16 : 0 a C 18 : 1 skupiny omega 9 začíná z acetyl-koenzymu A, který pochází z aerobních katabolických rozkladů přijatých sacharidů.

Sacharidy mohou být rozděleny:

Monosacharidy: do této třídy patří hexosy (glukosa, galaktosa, fruktosa) a pentosy s výjimkou glukosy jako volného sacharidu nacházejícího se jen v rostlinách. Budují bloky pro stavění di-, oligo-, a polysacharidů.

Di- a oligosacharidy: disacharidy jsou složené ze dvou monosacharidů, oligosacharidy ze tří až šesti. V těchto sloučeninách jsou monosacharidy spojené prostřednictvím etherických vazeb (odštěpením H₂O). Důležitý disacharid je laktosa, která se skládá z α- glukosy a β- galaktosy, a jde o významný disacharid zvířecího původu; také sacharosa složená z α-glukózy a β- fruktózy, maltóza složená ze dvou α-glukóz a celobióza, která je složená ze dvou β- glukoz.

Polysacharidy: polysacharidy jsou sloučeniny složené z většího počtu (stovky a tisíce) monosacharidů (Steffens, 1989)

Mezi významné polysacharidy pro ryby patří vláknina a škrob. V krmivu tvoří balastní část, důležitou pro naplnění zažívacího traktu. Vlákna je pro ryby nestravitelná a její vyšší množství, u lososovitých ryb nad 2,5 %, u kapra pak 8 %, snižuje stravitelnost ostatních živin (Mareš, 2000).

Stravitelnost sacharidů závisí na jejich struktuře a rybím druhu, protože různé rybí druhy mají různou aktivitu amylolytických enzymů. Lososovité ryby nemají v dostatečném množství obsaženu v trávicím traktu amylázu (tj. enzym štěpící škrob), proto je využití glycidů u těchto ryb omezené. Zažívací trakt kaprovitých ryb produkuje amylolytické enzymy (amyláza a maltáza), ve srovnání s lososovitými rybami efektivněji využívají sacharidy v krmných směsích (sacharidové krmné směsi). U kapra mohou být sacharidy primárním zdrojem energie, využívá přes 70 % BE obsažené v neupraveném škrobu.

1.2.1.4 Popeloviny (obsah minerálních látek)

(Steffens, 1989)

Minerály jsou esenciální chemické elementy, které jsou zapojeny ve výstavbě zvířecích organismů a jsou nezbytné pro jejich funkci. Různé rozdílně široké role jsou řazeny minerálům jako části nezbytné pro metabolismus ryb. Často působí jako biokatalyzátory pro enzymy, hormony a proteiny. Vápník a fosfor jsou například nezbytné pro kostru, zatímco železo je životně důležitá složka hemoglobinu. Minerály jsou také velmi důležité pro osmoregulační systém ryb.

Sladkovodní ryby mají srovnatelné nároky na minerální látky s teplokrevnými zvířaty. Do organismu se dostávají s potravou, kůží a žaberním aparátem, ryby mají schopnost absorbovat z vody vápník, fosfor a kobalt. Absorbované množství závisí na obsahu těchto prvků ve vodě. Problémy s nedostatkem minerálních látek v krmivu nebo jejich nedostupnosti se objevují jen v intenzivních chovech bez dostupnosti přirozené potravy.

Obsah minerálů v organismu poskytuje určité vodítko k úrovni minerální potřeby. Ty mohou být za určitých změn rozdílné v důsledku obsahu minerálů ve vodě a stravě, tak jako ve velikosti ryby. Podle studie Satoha et al. stabilní obsah minerálů v pstruhovi duhovém je dosažen, jakmile ryby dosáhnou 2 – 10 g (to je 12 – 20 týdnů po zahájení příjmu krmiva).

Při nedostatku některého z prvků se mohou objevit zdravotní problémy. Nadbytek minerálních látek je vylučován močí, výkaly, slizem, přes žaberní aparát a kůží. Některé minerální látky, zejména ze skupiny stopových prvků, mohou v nadbytku způsobit metabolické poruchy nebo působit toxicky. Některé z prvků však mohou být v organismu kumulovány a působit nepříznivě nejen na organismus ryby, ale i dále v potravním řetězci. Optimalizace zastoupení minerálních látek v krmivu je prováděna prostřednictvím minerálních doplňků, dnes často ve formě premixů společně s vitamíny.

Obecně je možné zařadit minerály do dvou skupin:

Makro elementy – stupeň dietních požadavků je obvykle větší než 100 mg/kg sušiny a může dosáhnout 250 mg/kg. Patří sem vápník (Ca), fosfor (P), hořčík (Mg), draslík (K), sodík (Na), chlor (Cl) a síra (S).

Mikro elementy - stupeň dietních požadavků je obvykle menší než 100 mg/kg sušiny. Patří k nim železo (Fe), měď (Cu), mangan (Mn), zinek (Zn), kobalt (Co), molybden (Mo), chrom (Cr), selen (Se), fluor (F), jód (I) a nikl (Ni).

Fosfor musí být obsažen v krmivu v biodostupné formě. Pro ryby je nejvhodnější forma fosforu anorganická ve formě monokalciumpfosfátu. Potřeba fosforu pro pstruha duhového je přibližně 0,7 - 0,8 % krmné dávky. Vyšší množství fosforu v krmivu zvyšuje ekologickou zátěž prostředí a přispívá k eutrofizaci vod. Obdobně jako v případě fosforu je potřeba volit vhodnou formu (biodostupnou) zdrojů minerálních látek v krmivu.

Vápník a fosfor patří mezi nejvýznamnější minerální látky pro stavbu těla ryb (kosterní soustava), společně se železem (tvorba krve), fluórem a hořčíkem.

Železo, kobalt a měď mají význam pro krvetvorbu a při jejich nedostatku se objevuje anemie.

Sodík, draslík a chlór se podílejí na osmoregulaci.

Minerální látky jsou v organismu ukládány do zásoby a v době potřeby jsou uvolňovány a dopravovány v organismu na místo potřeby.

1.2.2 Zaživací procesy ryb

(Halver, Hardy, 2003)

1.2.2.1 Fyzikální proces

Fyzikální proces startuje v ústech, kde je potrava drcena zuby, patrovými destičkami a žeberními tyčinkami. Jakmile se krmivo dostane do žaludku a střev, svalové stahy mixují tráveninu s kyselinami a ostatními střevními šťávami. Silné svaly žaludku pomáhají k destrukci buněčných stěn, chitinu a ostatních těžkých částic. Peristaltika přenáší tráveninu dál trávicím traktem směrem k řiti, zatím co je také s tráveninou mícháno. To dává živinám těsný kontakt s enzymy nacházející se v kartáčovém lemu a zaživacím šťávám.

1.2.2.2 Chemický proces

U ryb s pravým žaludkem dochází k sekreci kyseliny chlorovodíkové a pepsinogenu buňkami v kanálcích vedoucích do lumenu, když je přítomna strava. Tato sekrece je jak pod endokrinní, tak pod nervovou kontrolou (Wendelaar bonga 1993). Kyseliny denaturují proteiny a karbohydráty, ničí buněčnou strukturu, emulgují tuky a obecně dělají živiny v trávenině dostupnější enzymatickému narušení a uvolnění živin (Smith 1989, Chkrabarti et al. 1994). Aktivita kyselin trávicích enzymů, jako pepsin žaludeční lipáza a chitináza, je vyšší v nízkém pH.

Jakmile zaživatina projde žaludkem, je sekretován uhličitan sodný. Uhličitan je produkován hroznovitými buňkami v exokrinní pankreatické tkáni. Tyto sekrece vstupují kanálky spojující žlučník se střevem, anebo přímo ze střev.

1.2.2.3 Enzymatický proces

Enzymy slouží k rozkladu živin v potravě na komponenty, které mohou být absorbovány přes kartáčový lem membrány erytrocytů. Tyto enzymy mohou být exkretovány do lumenu, vázané na membrány, nebo vázané na vakuoly v enterocytech. Proto trávení u ryb může nastat s využitím jednoho nebo více motivů: mimobuněčné (nebo lumenal) trávení, membránové spojení (membrane-linked) trávení, a vnitrobuněčné trávení. Tady může být velká část zaměřena na mimobuněčné trávení v lumenu a menší rozsah, membrane-linked trávení (zhodnotil Kuz'mina a Goldman, 1997), ale k jisté činnosti může dojít vnitrobuněčným trávením. Funkční význam těchto modelů trávení se zdá být změněn během ontogeneze a snad i fylogeneze; nicméně v obecnějším případě vše pravděpodobně pracuje v souladu.

Třídy enzymů jsou často pojmenovány pro funkci, kterou vykonávají, nebo typu sloučeniny, kterou aktivují. Často následuje jméno sloučeniny s příponou -áza ve jménu enzymu. Například proteázy působí na proteiny, lipázy na lipidy a dále. Enzymy jsou uloženy v buňce v inaktivní formě (protozymes nebo zymogens) a stávají se aktivní pouze, pokud jsou sekretovány, když je zde zaživatina nebo kyselina, nebo když jsou aktivovány jinými enzymy. Inaktivovaná proteozynová forma je často nazývána s přidáním přípony -ogen. Například pepsinogen je inaktivovaná uložená forma aktivního enzymu pepsin. Při dostatku jsou zde dva nebo více enzymů s mírně rozdílnou aktivitou, afinitou pro substrát, optimálním pH, nebo umístění tkáně, ale se stejnou funkcí. Ty jsou často označeny písmenem nebo číslem za jménem enzymu. Například karboxipeptidáza A nebo karboxipeptidáza B jsou oba enzymy, které štěpí aminokyseliny z karboxi konce a peptidového řetězce. Jsou zde také izoenzymy pro více, ne-li všechny enzymy.

1.2.3 *Artemia salina*

1.2.3.1 Popis

(Kočí, Rakovický, Švagr, 2001)

Vajíčka žábřonožky solné se k nám dovážejí v konzervách, téměř výhradně vyráběných v USA, například firmou Ocean Star International, Inc. Vajíčka žábřonožek jsou sbírána ve Velkém solném jezeře v Utahu. Jsou omyta sladkou

vodou, usušena a vakuově plněna do konzerv. Běžně jsou po vylíhnutí používána jako krmivo pro akvarijní ryby – viz č. 6.

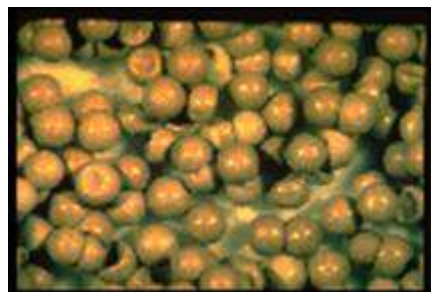
Ač se jedná o organismus žijící ve slaných vodách, nachází se pouze v jezerech, ne v mořích.

Řád žábřonožek patří do podtřídy lupenonožců, *Phyllopoda*. Tělo mají vždy bez schránky, protáhlé a měkké, složené z četných článků. Dorůstají 5 - 70 mm. Žábřonožka solná dorůstá 12 mm -18 mm a žije až 4 měsíce. Na hlavě má nečlánkovaná nitkovitá tykadla prvního páru a mohutná tykadla druhého páru, která mají u samců tvar dvoučlánkových kleští (u samic jsou drobná a méně nápadná). Tykadla samců slouží k přidržování samičky při kopulaci. Z jejich základního článku často vyrůstají různé charakteristické výrůstky, jež slouží jako dobré determinační znaky. Na předním okraji hlavy se mezi tykadly někdy nachází nepárový čelní výrůstek. Na spodní straně hlavy je ústní ústrojí. Na čele jedno nepárové naupliové očko, na bocích hlavy se nalézají velké stopkaté složené oči. Hrud' se skládá z jedenácti článků, z nichž každý nese ventrálně pár listových plovacích nožek. Zadeček se skládá z devíti článků; první dva články jsou spolu víceméně srostlé, nesou pohlavní orgány. U samic bývá v těchto místech upevněn nápadně zbarvený vak s vajíčky.

Žábřonožky žijí ve stojatých vodách, často především v dočasných (periodických) tůňkách vytvořených táním sněhu apod. Žábřonožka solná je kosmopolitně rozšířený druh, který je velmi hojný v přímořských a vnitrozemských tůňkách, slaných jezerech a solných dolech s mírně až velmi slanou vodou. Na příhodných lokalitách je možný výskyt i na našem území.



a)



b)

Obr. 6 a) Vylíhlý nauplius artemie, b) Trvalá vajíčka artemie.

Zdroj obrázků (Kočí, Rakovický, Švagr, 2001)

Skladování

Neotevřená konzerva vajíček má být uložena v chladu a suchu. Líhivost zárodků v trvalých vajíčkách je zaručena zhruba jeden rok. Dají se však dobře použít i až 4 roky stará vajíčka. Otevřená konzerva musí být uchovávána v neporušeném igelitovém sáčku dobře uzavřeném gumičkou a uložena v ledničce. K vajíčkům se nesmí dostat voda ani vzdušná vlhkost.

Líhnutí vajíček

Obvykle se provádí tak, že se do laboratorní mořské vody, zpravidla o salinitě 1,2 - 3,0 % NaCl, odebere malé množství trvalých vajíček. Vodu je dobré udržovat v mírném pohybu. Toho se nejlépe docílí provzdušňováním slabým proudem vzduchu. Tím se zajistí i adekvátní aerace. Je třeba nastavit proudění vzduchu tak, aby trvalá vajíčka vířila ve vodním sloupci a neležela na dně nebo na hladině. Líhivost kvalitních vajíček se obvykle blíží 100 %. Optimální teplota pro líhnutí je 27 – 29 °C, kdy k vylíhnutí dochází přibližně do 18 hodin. Snížením teploty na 25 °C nedojde ke změně v citlivosti nauplií, ale k prodloužení doby líhnutí; při této teplotě se líhnou za 24 hodin, a to je pro provozní podmínky v laboratořích často příznivější. Nevylíhlá vajíčka obvykle leží na dně, prázdné skořápky plavou na hladině. Živé žábřonožky jsou přitahovány světlem a lze je tedy pomocí bodového světelného zdroje dobře shromáždit na jednom místě a pak odlovit.

Z jedné konzervy lze získat až několik miliónů žábřonožek, u nichž je zaručena vysoká homogenita – stejné vlastnosti.

1.2.3.2 Formy používané v akvakultuře

(Browne, Solgeloos, Trotman, 1991)

Dekapsulované trvalá vajíčka artemie

Tvrdé vajíčko (chorion), ve kterém je embryo artemie, může být odstraněno chemickými látkami v procesu dekapsulace. Tento proces vyžaduje hydrataci vajíček a odstranění chorionu kyselinou chlorovodíkovou. Výsledek dekapsulace je malé, života schopné embryo, které má v průměru přibližně 210 až 270 µm. Dekapsulovaná vajíčka mohou být krmena přímo, nebo mohou být líhnuta do instaru I.

Výhody dekapsulovaných vajíček jsou mnohé:

- 1) Embryo se během této procedury vydesinfikuje, nehrozí žádné nebezpečí zavlečení bakterií do chovného objektu z vajíček artemií.
- 2) Skořápky vajíček nejsou zavedeny do chovných nádrží a nemohou zde být pozřeny rybami.
- 3) Dekapsulovaná vajíčka obsahují vyšší enegetický podíl, když jsou krmena v instaru I, protože nemusí vynaložit energii k rozloupnutí skořápky.
- 4) Dekapsulovaná vajíčka jsou menší částice než instar I. A také, když jsou dekapulovaná vajíčka inkubována do instaru I, líhnutí je lepší, protože nemají skořápku.

Hlavní nevýhodou je, že jsou nepohyblivé. Tak je některé akvarijní organizmy, jako malé rybí larvy, mohou využít pouze pro jejich malou velikost.

Snad pro tento důvod je hlavní využití dekapulovaných vajíček v garnátích líhních, kde jsou larvy schopné odolávat aeraci, nebo se mohou lépe zmocnit potravy blízko dna.

Nově nalíhlé nauplie

Nauplie v instaru I a II jsou pravděpodobně nejvíce používaná forma artemie v akvakultuře. Procento líhnutí (celkové procento vajíček, které se opravdu vylíhnou), schopnost líhnutí (počet nauplií vylíhlé z 1 g vajíček), poměr líhnutí, včetně T_0 (čas prvního líhnutí) a T_{90} (čas 90 % líhnutí) a produkce líhnutí (suchá hmotnost nauplií z g vajíček) může být zjištěna metodou dle Bruggemana a kol. (1980), Sorgeloose a kol (1978), Vanhaecka a Sorgeloose (1982) a Vanhaecka a Sorgeloose (1983). U určitých forem, zvláště z kanadských jezer, může být také užitečné znát rozdíl v procentu líhnutí v 5ppt mořské vodě proti 35ppt a s dekapulovanými vajíčky oproti nenarušeným vajíčkům. Také je třeba znát obvyklý postup líhnutí.

Nově vylíhlé nauplie artemie jsou chovaným organismům krmeny ihned po líhnutí. Mohou být zavedeny do nádrže všechny najednou, nebo mohou být dodávány pomalu, tak aby byly ve vodě stále dostupné. Tato metoda má nevýhodu v nižší nutriční hodnotě a vyšší velikosti díky skladování. To lze vyřešit nižší teplotou skladování. Když jsou nauplie drženy pod 4° C, než jsou přidány do nádrže ke krmení, jejich metabolismus je zpomalen a je zachována jejich nutriční hodnota i velikost po 48 hodin.

Mražené a mrazem sušené artemie

Biomasa artemie může být mražená, mrazem sušená, nebo vločkováná pro uložení a další použití s relativně malou ztrátou nutričního složení. Mražená forma je často komerčně prodávána v mnoha společnostech. Použití mrazem sušené a vločkové artemie bylo nedávno navrženo Guimaraes a Lira do Rego (1987) a Janata a kol. (1987), i když jejich efektivita krmení nebyla kompletně ověřena.

Někteří chovatelé mají vyzorováno, že mražené nebo sušené nauplie mohou vést k redukci růstu a přežití rybích larev asi kvůli snížení nutričních hodnot během procesu rozmrazování.

1.2.3.3 Biochemické složení artemie

(Browne, et al., 1991)

Hmotnost sušiny a individuální energetický obsah v artemii v instaru I silně souvisí s velikostí vajíček a nauplií. Hmotnost sušiny očekáváme kolem 1,6 - 3,3 μg na nauplii a energetický obsah kolem 0,037 - 0,073 J.

Literární zdroje se v složení nauplií velmi liší, udávají 37 – 71 % proteinu, 12 – 30 % tuku, 11 – 23 % sacharidů a 4 – 21 % popela. Hodnoty u adultních artemií jsou 50 – 69 % protejnů, 2 – 19 % lipidů, 9 – 17 % sacharidů a 9 – 29 % popela.

Mastné kyseliny jsou pravděpodobně nejsledovanější biochemický komponent, díky brzkému objevení. Watanabe et al. (1978) dokazuje, že rozvětvené esenciální mastné kyseliny jsou v artemii různé. Poslední kontrola databáze publikovaných i nepublikovaných profilů mastných kyselin odhalila, že šest mastných kyselin (FA) FA 16 : 0, 16 : 1 (n-7), 18 : 1 (n-7), 18 : 2 (n-6), 18 : 3 (n-3) normálně tvoří kolem 80 % celkových mastných kyselin ve vzorku artemie. Nasycené a nenasycené FA těchto skupin 16 : 0, 16 : 1 (n-7), 18 : 1 (n-7) typicky zahrnují 40 – 60 % celkových FA. Watanabe et al. (1978) stejně jako Mezinárodní studie artemie a ostatní práce na artemii determinuje n-3 skupinu FA, 18 : 3 (n-3) a 18 : 5 (n-3), jako nutričně efektivnější než ostatní samostatné biochemické komponenty. Linolenová kyselina je esenciální pro sladkovodní organismy, zatímco eikosapentaenová kyselina je esenciální pro mořské organismy. Chybí-li jedna z nich, je artemie chudá pro tyto organismy. Normální vzorky artemie obsahují buď a) 18 : 3 množství víc než 20 %

všech FA a 20 : 5 množství méně než 5 %, nebo 18 : 3 v množství pod 10 % všech FA a 20 : 3 v množství mezi 5 – 13 %.

Složení FA je negenetické. Millamena et al. a Lavens et al. prokázali, že FA adultních artemií, stejně jako vajíčka, které produkují, jsou ovlivněny krmnou dietou. V posledních letech mají vajíčka z Velkého slaného jezera vysoký obsah 13 : 3 (n-3) a nízký obsah 20 : 5 (n-3).

Aminokyseliny obsažené v naupliích artemie se zdají být pozoruhodně podobné v různých kmenech artemie, to znamená, že životní prostředí není rozhodující, jako je tomu u FA. V naupliích je normálně přítomno i 10 esenciálních aminokyselin pro ryby.

Přítomnost několika proteolytických enzymů v rozvojových embryích artemie a nauplií a měření proteolytické aktivity vedlo ke spekulacím, že exogenní enzymy v naupliích hrají rozhodující roli v trávení těchto nauplií v trávicím traktu larev ryb. To může být rozhodující z pohledu relativně nízké enzymatické aktivity u mnoha prvně krměných ryb a méněcennosti připravovaných krmiv.

1.2.4 Srovnání planktonu a artemie

Živinné složení zooplanktonu (v sušině):

Protein	55 – 60 %
Tuk	12 – 16 %
Popel	10 – 15 %
Sacharidy	10 – 12 %
Voda	85 – 95 %
Energie	18 –23 kJ.g-1

Živinné složení artemie (v sušině):

Bílkoviny	min. 54 %
Sacharidy	min. 15 %
Tuky	min. 20 %
Popeloviny	max. 12 %

Další porovnání planktonu a artemie je uvedeno v přílohách č. 1 a 2.

1.2.5 Vliv zmrazení na hodnotu krmiva

Přírodní zooplankton doplněný o vířníky a artemie je často používán v mořské produkci juvenilů. Zooplankton je získán a používán buď živý, nebo konzervovaný, jenž je nabízen jako neaktivní krmivo pro rostoucí larvy. Zmrazení je vysoce použitelná metoda pro dlouhodobé skladování zooplanktonu. Post mortem protein v zooplanktonu je však ve zhoršeném stavu, pravděpodobně v důsledku vysoké enzymatické aktivity, a stále větší část aminokyselin v zooplanktonu je nalézána jako volné aminokyseliny (FAA) v závislosti na času od získání. V důsledku toho obsah aminokyselin vázaných na proteiny (P_a) klesá s časem po získání. Zároveň je vyšší procento volných esenciálních aminokyselin v FAA v části zooplanktonu, pokud je zmrazený na – 21 °C až – 38 °C, než při hlubokém zamrazení – 196 °C, a zvyšuje se s časem před zmrazením. Rybí larvy nejsou schopny syntetizovat esenciální aminokyseliny samy, a proto jim musejí být dodány prostřednictvím potravy. Po zavedení zmrazeného zooplanktonu do vody, jsou všechny volné aminokyseliny úplně ztraceny. V porovnání s pomalým zmrazením zooplanktonu se únik aminokyselin z bílkovin a volných aminokyselin v průběhu první 0,5 h po rozmrazení snižuje šokovým zmrazením. Délka uchování času po získání je nejdůležitější faktor pro udržení vysoké úrovně proteinů ohraničených aminokyselinami. Ve snaze udržet vysokou nutriční hodnotu zooplanktonu a minimalizaci úniku proteinů, volných aminokyselin a esenciálních aminokyselin je důležité začít manipulaci a zpracování zooplanktonu ihned po získání. (Overein, 2001)

Experiment zřízený v domácí líně a popsáný Ojutikem (2008) používá dvě dietní kúry (živá a mražená *Daphnie*) se třemi opakováními. Byla použita dobře kyslíkatá čistá voda se stovkou plůdku *Clarias gariepinus* a *Heteroclaris*. Plůdek byl krmen třikrát denně přibližně 50 živými a 50 mraženými dafniemi na kus za krmnou dobu. Výměna vody byla regulována na odstranění nezkonsumovaných zbytků potravy a ostatních metabolitů. Každé ráno bylo vyměněno asi 25 % vody. Hodnota přežití plůdku byla zjišťována každý den počítáním a zapisováním úmrtnosti. Hodnocení krmení stanovovalo přežití a hodnotilo tempo růstu larev *Clarias gariepinus* a *Heteroclaris* (hybrid *Clarias gariepinus* a *Heterobranchus longifilis*) (3 dny starý), krmených živými a zmraženými dafniemi. Živé a mražené *Daphnie* byly použity jako počáteční krmení v množství 50 dafnií na larvu za krmný čas pro každý druh za

čtrnáct dní na posouzení jejich výživnosti. Byly porovnány reakce na krmiva a druhy. Larvy *Heteroclarias* a *Clarias gariepinus* krmené živými dafniemi rostly lépe v porovnání s tempem růstu než ty, které byly krmeny zmrazenými dafniemi. Larvy *Clarias gariepinus* a *Heteroclarias* krmené mraženou potravou lépe přežívaly, než ty, které byly krmeny živými dafniemi. *Heteroclarias* krmené živou a mraženou dafnií se vyvíjely a přežívaly lépe než *Clarias gariepinus*.

Proto je živá dafnie doporučena jako výživa pro larvy, zmrazenou dafnií lze použít jako doplněk. (Ojutiku, 2008)

2. Materiál a metodika

Práce je založena na sledování růstu a přežití medaky japonské *Oryzias latipes*, tj odchovu embryí (larev) a jejich krmení různě upravenou potravou, kterou byla žábřonožka solná *Artemia salina*. Cílem tohoto pokusu bylo zjistit, zda má její rozmrazení a opakované zmrazení vliv na růst a vývoj larev oproti živé artemii. A pokud jsou výživou tyto faktory ovlivňovány, do jaké míry.

Pro práci byla nejprve prostudována odborná literatura, následovala analýza těchto textů. Následně bylo připraveno potřebné materiální vybavení pro odchov akvariálních ryb. Pro samotný pokus bylo zapotřebí získat embrya od ryb druhu *Oryzias latipes*, která byla následně umístěna do pokusné nádrže. Neboť jedno opakování cyklu není relevantní, byl celý cyklus opakován. To znamená, že chov ryb probíhal po dobu 2 let, přičemž odchov larev byl proveden celkem dvakrát, z toho jedenkrát byl pokus zkrácený na 40 dní a to z důvodu ukončení semestru a pobytu v Českých Budějovicích.

2.1 Generační ryby a metodika jejich chovu

Ryby jsou původem z laboratorního chovu ústavu zoologie Technische Universität Dresden v Německu a jsou tvořeny linií Q2d-rR.YHNI. Typickými exteriérovými vlastnostmi této linie jsou takřka absolutní absence melanocytů a přítomnost oranžovo-červených chromatoforů u samců, umožňující jejich vizuální odlišení od samic (mimo jiné sekundární pohlavní znaky).

Generační hejno tvořilo asi 150 kusů s převahou samců. Generační hejno bylo odchováno do pohlavní zralosti ve třech nádržích o rozměrech 490 x 290 x 350 a objemu 49,75 litrů, které byly naplněny asi 5 až 10 cm pod okraj. Nádrže byly vybaveny 100 wattovými termostatickými topnými tělesy, teploměry, molitanovými filtry poháněnými vzduchem, vzduchovacími kamínky, zářivkovým osvětlením a trsem rostliny *Vesicularia dubyana* (jávský mech, měchýřovka jávská).

Ryby byly krmeny výhradně artemií (*Artemia salina*) v množství ad libitum (2 – 3x denně) – živinové ložení uvádí tabulka č. 1. Jako doplněk, asi 1x týdně, bylo použito

krmivo HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS od výrobce KYORIN Co. Ltd. Japonsko s tímto složením: moučka z pšeničných klíčků, pšeničná mouka, bílá rybí moučka, beta-karoten, niacinamid, pantothenan vápenatý, sojová moučka, sušená vojtěšková moučka, sušené pivovarské kvasnice, vitamín A, B1, D3, E, K3, B12, C, biotin, kyselina listová, inositol, cholinchlorid, uhličitan hořečnatý, síran manganatý tetrahydrát, jodičnan vápenatý hexahydrát, síran zinečnatý heptahydrát, síran kobaltitý heptahydrát - Garantovaný obsah živin v krmivu

HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS – viz tabulka č. 2, Přidané živiny do krmiva HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS – viz tabulka č. 3.

Tabulka č. 1 - Živinové složení artemie.

Živinové složení artemie (v sušině):	
Bílkoviny	min. 54 %
Sacharidy	min. 15 %
Tuky	min. 20 %
Popeloviny	max. 12 %

Tabulka č. 2 - Garantovaný obsah živin v krmivu HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS

	Garantované	Typické
Protein	min 42 %	49 %
Tuk	min 4 %	8,8 %
Vláknina	max 3 %	0,8 %
Vlhkost	max 10 %	
Popeloviny	max 17 %	12 %
Fosforečnany	min 1 %	2 %

Tabulka č. 3 - Přidané živiny do krmiva HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS

Přidané živiny	
Vitamín A	11,000 MJ/kg
Vitamín C	63 mg/kg
Vitamín D3	2,300 MJ/kg
Vitamín E	260 mg/kg
Měď	3,7 mg/kg

Teplota vody v nádržích byla udržována na $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ termostatem. Osvětlení bylo zajištěno zářivou trubicí HAILEA DGEB-YZ-T8 tropical red o výkonu 25 W a délce 740 mm a to pomocí samočinných spínacích hodin po dobu 14 hodin. Po dobu 10 hodin byla zajištěna tma. Tato diurnální perioda a roční období (jaro, léto) zajistily indukci tření. Odstranění zbytků potravy a výkalů bylo prováděno každý den odsátím asi $\frac{1}{4}$ obsahu, navíc byla 1x týdně provedena výměna $\frac{1}{2}$ obsahu akvária a obsah nádrží byl doplněn na původní stav odstátou a vytemperovanou vodou. Molitanový filtr poháněný vzduchem byl v provozu po celou dobu, stejně jako vzduchovací kamínky. Filtr byl čištěn 1x – 2x za 14 dní. Po pozorování výtěru, samicím se objevily na urogenitální papile první vytřené jikry, byla teplota zvýšena na $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a světelná perioda upravena na 16 hodin světla a 8 hodin tmy, což ryby ještě více stimulovalo ke tření.

2.1.1 Výtěr generačních ryb a odběr jiker

Výtěr probíhal spontánně v odchovných nádržích. Ryby se třely ráno, asi hodinu až dvě po rozednění, popřípadě po nakrmení. Jikry byly ve shluku zavěšeny ve vejcovodech samic pomocí početných vláček. Podle doby odběru mohly být též na dně nebo navěšeny na rostlině *Vesicularia dubyana*. Odebrány byly jikry jak ze dna, tak z rostlin, tak i opatrně z ryb. Tyto ryby byly před odběrem narkotizovány

v roztoku hřebíčkového oleje (Clove Leaf Oil, Purity Australia Pty. Ltd., Austrálie) o objemu 1 kapky na 50 ml vody v Petriho misce. Samice s jikrami byla vylovena pomocí akvaristického zvonu a umístěna do narkotizační lázně na dobu 10 sekund, poté přelovena do Petriho misky s čistou vodou, kde byl proveden odběr jiker, a následně vrácena do odchovné nádrže. Takto ošetřené ryby nejevily známky poškození a nedocházelo k žádným úhynům. Jikry ze dna byly odebrány pomocí akvaristického zvonu. Jikry na rostlinách byly odděleny pomocí preparační jehly. Všechny jikry byly odděleny od sebe a umístěny do inkubační nádrže o rozměrech 490 x 210 x 300 a objemu vody 38 litrů, ve které bylo asi 5 cm vody. K eliminování zaplísnění a až 100% ztrát při následné inkubaci byl použit roztok vody a metylénové modři o koncentraci 1 mg.l⁻¹. I tak ztráty činily až téměř 40 %. Do takto připravené nádrže byly umístěny jikry ze dvou až tří výtěrových dnů. Odumřelé, bílé jikry, byly odebírány 2x denně. Nebylo třeba inkubovat více jiker, protože do pokusu se larvy nasazovaly v jeden den.

2.1.2 Odlov embrya a nasazení do pokusu

Do pokusu byly nasazeny larvy po rozplavání, tzn. asi 1 až 2 dny po vykulení. Larvy byly odebírány z inkubační nádrže pomocí lžíce, byly počítány a kontrolovány, aby nedošlo k nasazení nějak deformovaných larev. Následně byly nasazeny jednorázově do jednoho akvária rozděleného sítkou na 4 oddělení – viz příloha č. 4 – v počtu 50 kusů do jednoho oddělení při prvním pokusu, a v počtu 35 kusů do jednoho oddělení při druhém pokusu. Tato nádrž nebyla nijak temperovaná, teplota vody byla shodná s okolním prostředím, tzn. že teplota byla udržována na 19,5 °C ± 1,5 °C.

2.2 Příprava živé potravy

Pro odkrm generačních ryb, jedné ze sledovaných skupin, a pro přípravu dalších diet byla zvolena jako krmivo žábřonožka solná. Inkubace trvalých vajíček byla prováděna v 2 litrových PET lahvích, kam bylo nalito 1,5 litrů odstáté vody, přidáno asi 10 – 15 g kuchyňské soli (NaCl) a 2,5 g vajíček žábřonožky solné. Tyto lahve byly umístěny v nádrži o rozměrech 490 x 290 x 350, kde bylo asi 10 cm vody, ve které bylo umístěno termostatické topné tělísko, které udržovalo stálou teplotu vody i inkubačních lahvích na 28 °C, a vzduchovací kamínek, který zabezpečoval kontinuální promíchávání vodní lázně. V inkubačních lahvích s artemií bylo

zabezpečeno kontinuální promíchávání vody pomocí vzduchovacího kamínku – viz příloha č. 3. Nasazení lahve se provádělo každý den pro kontinuálním líhnutí nauplií (doba líhnutí byla přibližně 20 – 36 hodin). Po ukončení líhnutí se nechaly žábřonozky bez vzduchování, tím se shromáždily u dna nebo u světelného zdroje, poté mohly být odsáty, zfiltrovány a zkrmeny, nebo upraveny na mraženou formu diety.

2.2.1 Příprava krmiva

Krmení se skládalo ze: a) živé artemie, b) trvale zamrazené artemie na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, c) artemie zamrazené na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazené na $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazené na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, a d) artemie zamrazené na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazené na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazené na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pro přípravu mražené diety byla použita živá a zfiltrovaná artemie, která byla umístěna do PE sáčků, zvážena a na dva dny umístěna do mrazícího boxu - do teploty $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po dvou dnech zde byla část ponechána (trvale zamrazená forma diety), část byla umístěna na 30 minut do vodní lázně o teplotě $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně vložena do mrazícího boxu na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, zbylá část byla umístěna do inkubátoru Friocell od výrobce BMT Brněnská Medicínská Technika a.s. na 48 hodin při teplotě $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazena na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. U rozmrazení se uvedená doba zdála být jako dostačující pro rozmrazení celého objemu vzorku.

2.3 Průběh pokusu

Ryby byly před nasazením změřeny a spočítány. Bylo zajištěno vzduchování pomocí vzduchovacího kamínku v každém oddělení zvlášť, tím byl zajištěn i částečný pohyb vody. Teplota vody byla $19,5 \pm 1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ viz příloha č. 5 a 6. Po nasazení byly ryby krmeny v množství ad libitum tzn. 2x – 3x denně připravenou dietou. Nezkrmené zbytky potravy a exkrementy byly odstraňovány každý den, čímž byla docílena výměna asi $\frac{1}{2}$ objemu vody. Každých 20 dní (0, 20, 40, 60, 80 a 100) od nasazení do pokusu bylo provedeno měření ryb a jejich počítání. K měření byl používán vzorek alespoň 6 kusů. Ryby byly narkotizovány v hřebíčkovém oleji (Clove Leaf Oil, Purity Australia Pty. Ltd., Austrálie) o objemu 1 kapky na 300 ml a následně došlo pod binolupou k měření jejich celková délky těla. Po 100 dnech byly ryby měřeny a zváženy.

Sledovala se:

- Mortalita
- Intenzita růstu

2.4 Příprava krmiva k chemickým rozborům

Živá artemie byla dána na zpracování v čerstvém stavu, tj. hned po vylíhnutí a následném zfiltrování. Upravovaná artemie, tzn. a) trvale zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, b) zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazená na $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, a c) zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazená na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, byla upravena stejně ve všech druzích. Nejprve byla rozmrazena ve vodní lázni o teplotě $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$, později propláchnuta vodou a následně zfiltrovaná. Takto upravená artemie byla předána k chemickým rozborům. Chemické rozborů byly zaměřeny na stanovení základních biochemických ukazatelů, tj. sušiny a obsahu dusíkatých látek, tuku, bezdusíkatých látek výtažkových a popelovin. Úprava odpovídá procesu vyplavování živin, který probíhá ihned po vložení artemie do vody při krmení. Stejná analýza byla zadána i pro stanovení složení ryb, krmených různými dietami, avšak pro nedostatek biomasy ryb mohla být stanovena pouze sušina a dusíkaté látky

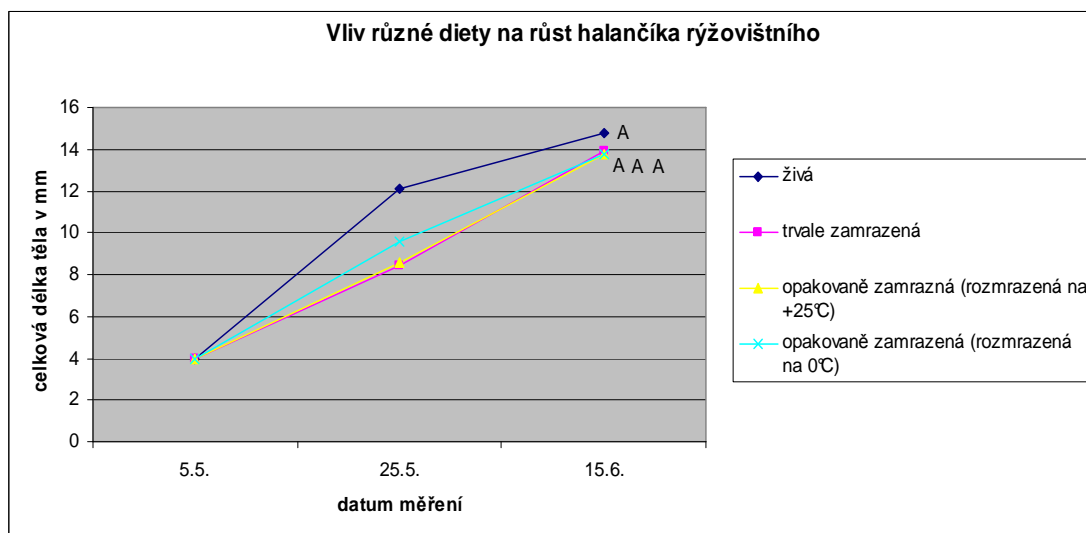
2.5 Použité statistické metody

Pro vyhodnocení výsledků bylo použito programy Microsoft® Office Excel 2003 a StatSoft, Inc. (2002) STATISTICA Cz [Sofistikovaný systém na analýzu dat], verze 6. Pro vyhodnocení růstu byly použity testy homogenity rozptylu a Tukeyův HSD test.

3. Výsledky

3.1 Pokus prováděný v termínu 5. 5. – 15. 6. 2009

Růst halančíka rýžovištního na základě různé diety

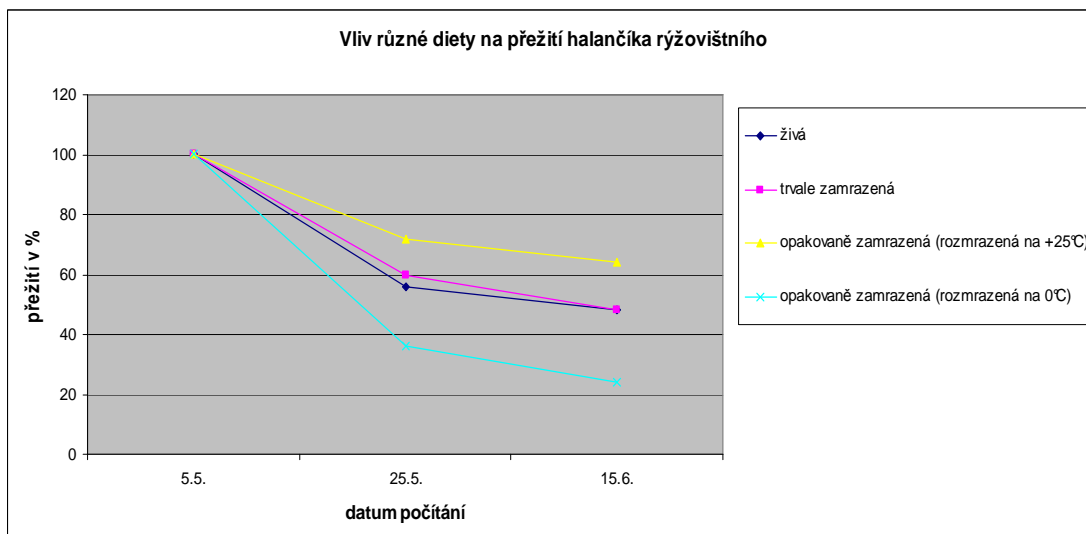


Graf č. 1 - Růst halančíka rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 1 ukazuje růst halančíka rýžovištního, *Oryzias latipes*, v závislosti na jeho krmení. Měření byla prováděna po dobu čtyřiceti dní. Sledovány byly čtyři skupiny halančíků, z nichž **1. skupina** byla krmena živou artemií, **2. skupina** artemií trvale zamrazenou, **3. skupina** artemií opakovaně zamrazenou (rozmrazenou na + 25 °C) a **4. skupina** artemií opakovaně zamrazenou (rozmrazenou na 0 °C).

Při posledním měření se mezi skupinami 1 – 4 neprojevil statisticky vyhodnotitelný rozdíl v růstu, avšak z měření je patrné, že skupina č. 1 krmená živou artemií rostla lépe.

Přežití halančíka rýžovištního na základě různé diety



Graf č. 2 - Přežití halančíka rýžovištního na základě různé diety

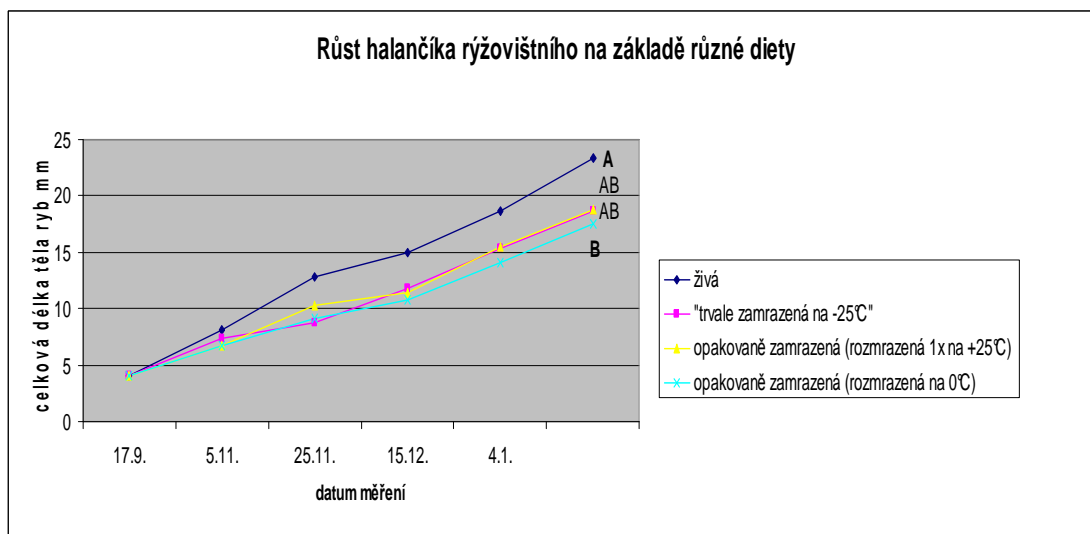
V pokusu bylo sledováno přežití halančíka rýžovištního v závislosti na různých dietách. Jak ukazuje graf č. 2, v **1. skupině** krmené živou artemií přežilo 48 % halančíků, ve **2. skupině** krmené trvale zamrazenou artemií přežilo 48 %, ve **3. skupině** krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) přežilo 64 % a ve **4. skupině** krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na 0 °C) přežilo 24 % halančíků. Nejnižší mortalita se tedy objevila u 3. skupiny, která byla krmena opakovaně zamrazenou (rozmrazená 1x na 25 °C) artemií. Nejvyšší mortalita se objevila u skupiny č. 4. krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na 0 °C).

Ve všech skupinách bylo do pokusu nasazeno 50 kusů halančíka. Během 1. týdne se však mortalita u všech skupin pohybovala na poměrně vysoké úrovni. V době prvního měření (25. 5.) byla následující: **1. skupina** – 44 %, **2. skupina** – 40 %, **3. skupina** – 28 % a **4. skupina** – 64 %. Již zde nejnižší mortalitu vykazovala 3. skupina, zatímco 1. skupina vykazovala mortalitu nejvyšší.

Při pokusu se neobjevily žádné deformace v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního.

3.2 Pokus prováděný v termínu 17. 9. 2009 – 24. 1. 2010

Růst halančička rýžovištního na základě různé diety



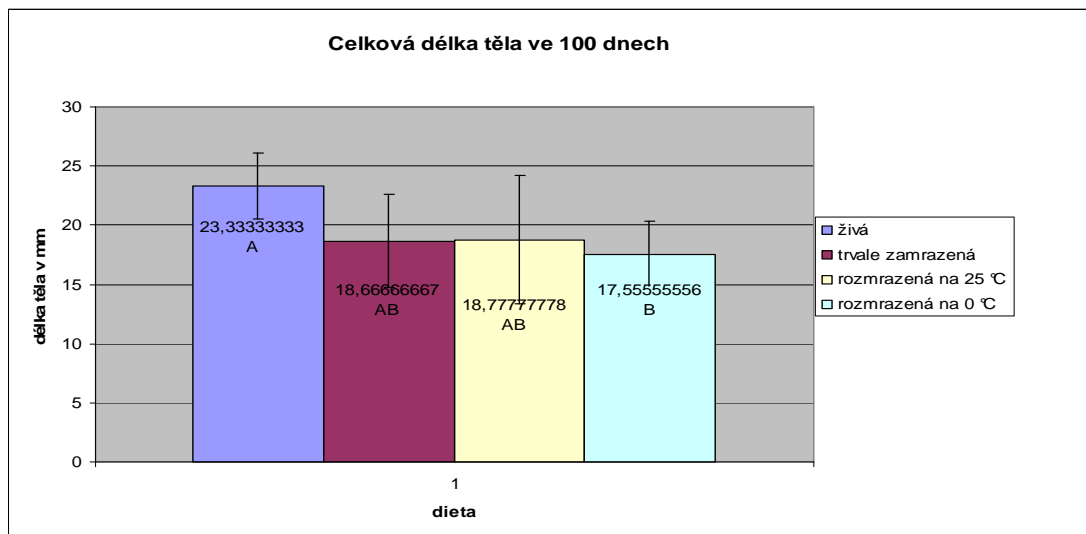
Graf č. 3 - Růst halančička rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 3 ukazuje růst halančička rýžovištního v závislosti na jeho krmení. Měření byla prováděna po dobu sto dní. Sledovány byly čtyři skupiny halančičků, z nichž **1. skupina** byla krmena živou artemií, **2. skupina** artemií trvale zamrazenou, **3. skupina** artemií opakovaně zamrazenou (rozmrazenou na + 25 °C) a **4. skupina** artemií opakovaně zamrazenou (rozmrazenou na 0 °C).

Při měření po **40 dnech** se mezi skupinami 1 a 2 projevil statisticky vyhodnotitelný rozdíl. Avšak měření ukazuje, že **1. skupina** vykazuje rychlejší růst, zatímco **2. skupina** růst nejpomalejší.

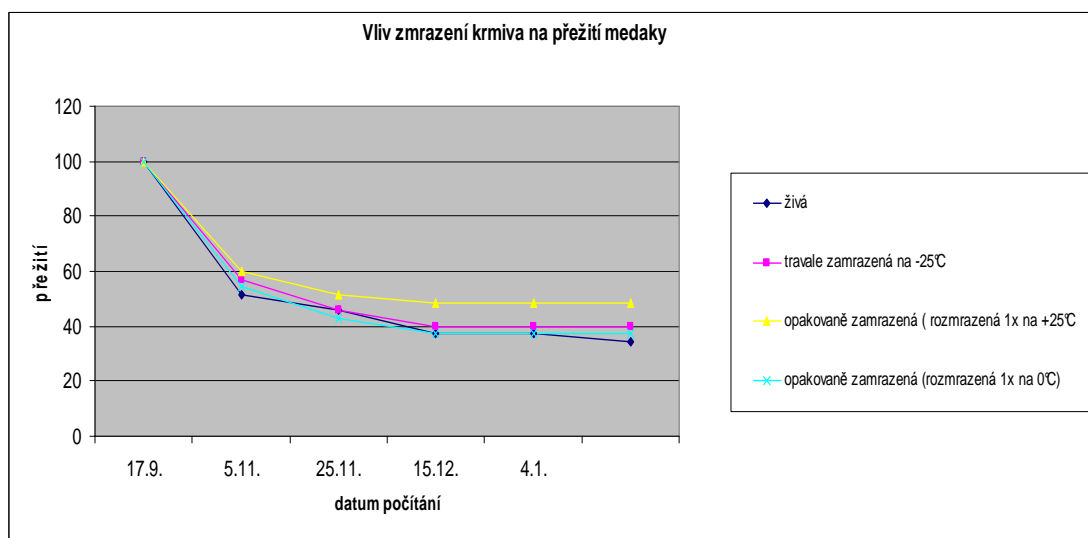
Při posledním měření se ukázal statisticky významný rozdíl ve velikosti halančičků mezi 1. skupinou a 4. skupinou, jak dokazuje graf č. 3 a graf č. 4.

Porovnání velikosti ryb ukazuje také graf č. 4, který je doplněn i o směrodatné odchylky.



Graf č. 4 – Délka těla ryb ve sto dnech

Přežití halančička rýžovištního na základě různé diety



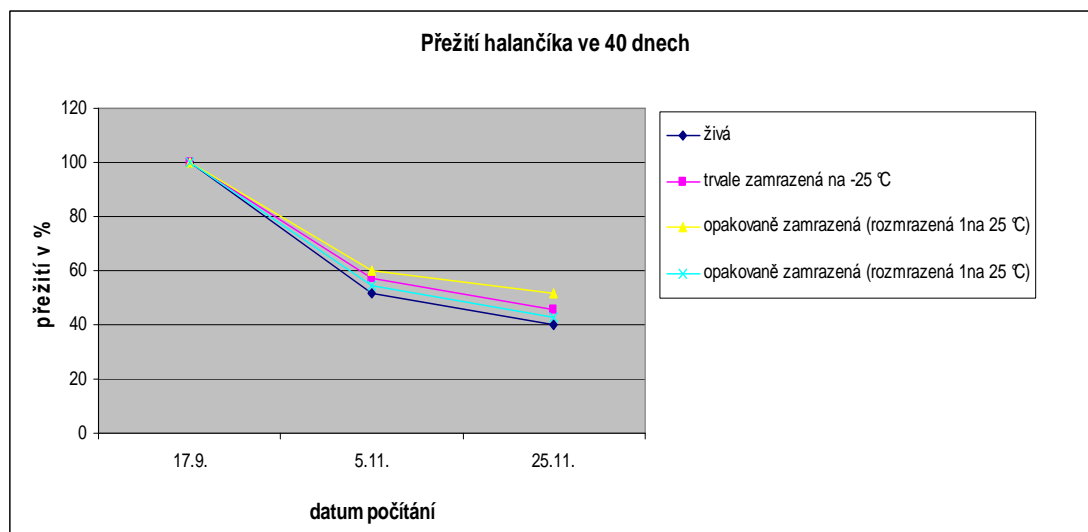
Graf č. 5 - Přežití halančička rýžovištního na základě různé diety

V pokusu bylo dále sledováno přežití halančička rýžovištního v závislosti na různých dietách. Jak ukazuje graf č. 5, v **1. skupině** krmené živou artemií přežilo 34,29 % halančičků, ve **2. skupině** krmené zamrazenou artemií přežilo 40 %, ve **3. skupině** krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) přežilo 48,57 % a ve **4. skupině** krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na 0 °C) přežilo 37,14 % halančičků. Nejnižší mortalita se tedy objevila u 3. skupiny, která byla krmena

opakovaně zamrazenou (rozmrazená 1x na 25 °C) artemií. Nejvyšší mortalita se objevila u skupiny č. 1 krmené živou artemií.

Ve všech skupinách bylo do pokusu nasazeno 35 kusů halančička. Během 1. týdne se však mortalita u všech skupin pohybovala na 30 %. V době prvního měření (5. 11.) byla následující: **1. skupina** – 48,58 %, **2. skupina** – 42,86 %, **3. skupina** – 40 % a **4. skupina** – 46,72 %. Již zde vykazovala nejnižší mortalitu 3. skupina, zatímco 1. skupina vykazovala mortalitu nejvyšší.

Po čtyřiceti dnech pokusu bylo přežití halančičků nejvyšší u **skupiny č. 3** – 51,43 %, nejnižší u **skupiny č. 1** – 40 %, u **skupiny č. 2** – 45,71 %, u **skupiny č. 4** – 42,86 % - viz graf č. 6



Graf č. 6 – Přežití halančička rýžovištního v závislosti na dietě ve 40 dnech pokusu

Při pokusu se neobjevily žádné deformace v průběhu ontogeneze halančička rýžovištního.

3.3 Porovnání výsledků obou pokusů

Pokus č. 1 probíhal v termínu od 5. 5. do 15. 6. 2009, pokus č. 2 pak v termínu 17. 9. 2009 až 24. 1. 2010. Je tedy patrné, že neprobíhaly po stejnou dobu. Zatímco 1. pokus probíhal po dobu 40 dnů (byl ukončen z důvodu konce semestru a odjezdu z Českých Budějovic), 2. pokus probíhal 100 dní. Pro objektivnost budou pokusy porovnány právě v období 40 dnů. Pro toto období jsou srovnatelné následující ukazatele:

- růst halančička rýžovištního v závislosti na různých dietách

- přežití halančička rýžovištního v závislosti na různých dietách
- deformace halančička rýžovištního během sledovaných období

Při porovnání růstu halančička rýžovištního v závislosti na různých dietách se ukázalo v obou pokusech shodně, že skupiny ryb krmené živou artemií rostly lépe. V ostatních skupinách se nevyskytly statisticky významné rozdíly.

Dalším ukazatelem je přežití halančička rýžovištního v závislosti na různých dietách. V obou pokusech se ukázalo, že nejlépe přežívaly ryby krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) artemií. Dále se ukázalo, že nejvyšší mortalita ryb je prvním týdnem po vykulení. Při porovnání hodnot mortality se však vychází z prvního měření. Zde je patrné, že nejnižší mortalitu vykazovala v obou pokusech skupina č. 3 - krmena opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) artemií.

Posledním ukazatelem, který je možno porovnat, je sledování výskytu deformací u ryb. V žádném z pokusů se deformace neobjevily.

3.4 Složení pokusných diet

3.4.1 Krmiva – artemie

Krmení se skládalo z živé artemie, trvale zamrazené artemie na -25 °C, artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na +25 °C a opětovně zamrazené na -25 °C, a artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na 0 °C a opětovně zamrazené na -25 °C.

Tabulka č. 4 - Výsledky rozborů krmiva – artemie

Vzorek	sušina	tuk	NL	popel	BNVL
živá	13,31	16,25	45,71	16,58	21,46
opakovaně zamrazená (rozmrazená na +25 °C)	16,52	15,09	52,62	16,04	22,06
opakovaně zamrazená (rozmrazená na 0 °C)	15,44	15,99	54,20	15,31	20,46
trvale zamrazená na -25 °C	16,92	15,95	55,33	15,27	20,00

Sušina je obsažena u živé artemie z **13,31 %** tzn. nejvyšší míře, u ostatních druhů diety je zastoupena v nižší míře, ale podobném zastoupení, tzn. u **trvale zamražené**

z **16,92 %** u artemií **rozmrazovaných na 0 °C z 15,44 %** a u artemií **rozmrazovaných na +25 °C z 16,52 %**.

Dusíkaté látky (NL) byly dalším sledovaným ukazatelem. Zde je jasně patrný rozdíl pro jednotlivé druhy krmiva. **Živá artemie obsahuje 45,71 %**, dále následuje **trvale zamražená artemie s hodnotou 55,33 %**. Artemie **rozmrazené na 0 °C mají hodnotu 54,20 %** a **artemie rozmrazené na +25 °C vykazují hodnotu 52,62 %**. Lze tedy vysledovat, že rozmrazením krmiva se dusíkaté látky nesnižují, naopak se koncentrují oproti jiným výživovým látkám.

Tuk je další složkou nezbytnou pro výživu ryb. I zde je patrný rozdíl mezi živou a jinak upravenou (znehodnocenou) artemií. **Živá artemie obsahuje 16,25 %**, **trvale zamražená 15,95 %**, **rozmražená na 0 °C 15,99 %** a **rozmražená na +25 °C 15,09 %**.

Popeloviny neboli minerální látky ovlivňují celkový vývoj ryb. V krmivu jsou tedy také nezbytně nutné, neboť jejich absence by vedla ke sníženému růstu a vývojovým poruchám. Ve sledovaných druzích krmiv se nevyskytovaly nijak velké rozdíly mezi živou a mrazem upravenou artemií, avšak živá artemie obsahuje popelovin nejvíce. **Živá artemie vykazovala 16,58 %** popelovin, zatímco upravená artemie, **rozmražená na +25 °C, pouze 16,04 %**, u **rozmrazené na 0 °C a u trvale zamrazené** byly naměřené hodnoty **15,31 % a 15,27 %**.

Poslední sledovanou složkou byly **bez dusíkaté látky výtažkové**. Zde se hodnoty pohybovaly **okolo 21 % u všech sledovaných krmiv**.

Celkově lze říci, že i když živá artemie neobsahuje všechny sledované látky v nejvyšší míře, zdá se být jako nejvhodnější, zatímco artemie trvale zamražená na -25 °C se zdá jako nejméně vhodná.

Rozdíly mezi jednotlivými dietami z hlediska obsahu látek nezbytných pro výživu jsou malé. I když živá artemie obsahuje nejméně dusíkatých látek, obsahuje nejvíce popelovin, které by mohly být pro růst limitující.

3.4.2 Ryby

U ryb byly pro nedostatek biomasy sledovány pouze dva ukazatele a to sušina a dusíkaté látky. Výsledky ukazuje tabulka č. 5

Tabulka č. 5 biochemické složení ryb.

Vzorek ryb - krmené:	sušina	NL
artemií živou	20,15	51,23
artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na +25 °C)	21,88	49,3
artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na 0 °C)	16,84	52,44
artemií trvale zamrazenou na -25 °C	18,75	49,91

Z tabulky č. 5 je patrné, že různě upravené krmivo nemá vliv ani na obsah sušiny, ani na obsah dusíkatých látek. **Nejvyšší hodnota sušiny je u ryb krmené artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na +25 °C), zatím co nejnižší hodnota je u ryb krmené artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na 0 °C). Dusíkaté látky jsou nejvyšší u ryb, které byly krmeny artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na 0 °C), nejnižší hodnota je zaznamenána u ryb krmené artemií opakovaně zamrazenou (rozmazená na +25 °C).**

Jak je patrné z předchozích rozborů, obsah dusíkatých látek v pokusných dietách nebyl limitující pro růst a přežití halančíka rýžovištního (*Oryzias latipes*).

4. Diskuse

Základním cílem práce bylo zjistit růst a přežití halančíka rýžovištního v závislosti na dietě. Pro srovnání výsledků z pokusů hodnotících přežití halančíka rýžovištního v závislosti na dietě byla nalezena podobná studie, experiment zřízený v domácí líhni a popsáný Ojutikem (2008). Studie byla prováděna na larvách sumečka afrického (*Clarias gariepinus*, *Heteroclarias*).

Pokusy prováděné v souvislosti se zjišťováním přežití halančíka v závislosti na dietě ukázaly, že nejlépe přežívaly ryby krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) artemií. Dále se ukázalo, že nejvyšší mortalita ryb je prvním týdnem po vykulení. Při porovnání hodnot mortality se však vychází z prvního měření. Zde je patrné, že nejnižší mortalitu vykazovala v obou pokusech skupina č. 3 - krmena opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) artemií. Výsledky odpovídají pokusu Ojutika (2008), který uvádí, že larvy *Clarias gariepinus* a *Heteroclarias* krmené mraženou potravou lépe přežívaly, než ty, které byly krmeny živými dafniemi.

Dále byl zjišťován růst halančíka rýžovištního. Při porovnání obou pokusů na růst halančíka rýžovištního v závislosti na dietách shodně vyplynulo, že skupiny ryb krmené živou artemií rostly lépe. V ostatních skupinách se nevyskytly statisticky významné rozdíly. Výsledky jsou opět shodné s výsledky Ojutika (2008), jenž uvádí, že larvy *Heteroclarias* a *Clarias gariepinus* krmené živými dafniemi rostly lépe v porovnání s tempem růstu než ty, které byly krmeny zmrazenými dafniemi.

Také Browne et al. (1991) uvádí, že někteří chovatelé mají vyzorováno, že mražené nebo sušené nauplie mohou vést k redukci růstu a přežití rybích larev asi kvůli snížení nutričních hodnot během procesu rozmrazování nebo sušení.

Větší využitelnost živých artemií může být dána také jejich pohyblivostí, čímž jsou pro ryby atraktivnější a dostupnější, jak uvádí i Browne et al. (1991). Hlavní nevýhodou je, že usmrčené nauplie jsou nepohyblivé. Tak je některé akvarijní organizmy, jako malé rybí larvy, mohou využít pouze pro jejich malou velikost.

Druhým cílem práce bylo zjistit rozdíly v chemickém složení živé artemie, trvale zamrazené artemie na -25 °C, artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na +25 °C a opětovně zamrazené na -25 °C, a artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na 0 °C a

opětovně zamrazené na -25 °C. Laboratorní výsledky odhalily, že nejvyšší nutriční hodnoty v tuku a popelovinách vykazuje živá artemie, artemie znehodnocená mrazením vykazuje hodnoty nižší, což je způsobeno degenerací výživových látek mrazením a jejich následném vyplavení při aplikaci krmení do vody. Zjištěné výsledky se zcela shodují s výsledky uvedenými v článku „Parmička dvojskvrnná *Bambus bimaculatus*“ od Eliáše (2004), který uvádí že, opakované zmrazení toto krmivo (buchanky) velmi znehodnocuje.

Overein (2001) ve své studii uvádí, že zmrazení je vysoce použitelná metoda pro dlouhodobé skladování zooplanktonu. Post mortem protein v zooplanktonu je však ve zhoršeném stavu a objevuje se vyšší procento volných esenciálních aminokyselin v části zooplanktonu, pokud je zmrazený na - 21 °C až - 38 °C, než při hlubokém zamrazení - 196 °C, a zvyšuje se s časem před zmrazením. Z toho lze usuzovat, u mrazeného krmiva by měl být nižší obsah nejen dusíkatých látek, ale i ostatních výživových látek. Tato Overainem (2001) uváděná fakta byla brána jako hypotéza pro práci Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*. Rozbory artemií připravených pro pokusy na ověření růstu a přežití halančíka rýžovištního (živé artemie, trvale zamrazené artemie na -25 °C, artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na +25 °C a opětovně zamrazené na -25 °C, a artemie zamrazené na -25 °C, rozmrazené na 0 °C a opětovně zamrazené na -25 °C) danou hypotézu úplně nepotvrdily, byla potvrzena pouze hypotéza o snížení obsahu některých výživových látek, a to tuků a popelovin.

Závěr

Hlavním cílem práce je vyhodnotit nutriční účinnost opakovaně rozmrazených nauplií *Artemia salina* a změny jejich chemického složení na růst, přežití a výskyt případných deformací v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*.

Pokusy byly prováděny v termínu od 5. 5. do 15. 6. 2009 a v termínu od 17. 9. 2009 do 24. 1. 2010. Z důvodu různé délky trvání pokusů bylo při jejich hodnocení přistoupeno k úpravě délky sledovaného období u druhého pokusu. Oba jsou tedy vyhodnoceny a vzájemně porovnány ve 40 dnech jejich trvání, tj. při druhém měření.

Sledovány byly čtyři skupiny ryb, které byly krmeny různými druhy krmiva (živá artemie, trvale zamrazená artemie na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, artemie zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazená na $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, a artemie zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, rozmrazená na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opětovně zamrazená na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Při měření prováděných vždy po dvaceti dnech byla sledována mortalita ryb, růst ryb a výskyt případných deformací.

Bylo zjištěno, že druh použitého krmiva ovlivňuje jak růst, tak přežití ryb.

Při porovnání růstu halančíka rýžovištního se ukázalo shodně v obou pokusech, že skupiny ryb krmené živou artemií rostly lépe. V ostatních skupinách se nevyskytly statisticky významné rozdíly.

Dalším sledovaným znakem je přežití halančíka rýžovištního. Oba pokusy ukázaly, že nejlépe přežívaly ryby krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) artemií. Dále se ukázalo, že nejvyšší mortalita ryb je prvním týdnem po vykulení. Při porovnání hodnot mortality jsou uvedena data z prvního měření. Zde je patrné, že nejnižší mortalitu vykazovala v obou pokusech skupina č. 3 - krmiva opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) artemií.

Posledním ukazatelem, který je možno porovnat, je sledování výskytu deformací u ryb. V žádném z pokusů se deformace neobjevily.

Dále se práce věnuje nutriční účinnosti krmení. Laboratorní výsledky odhalily, že nejvyšší nutriční hodnoty limitujících látek, tzn. tuku a popelovin, vykazuje živá artemie, artemie znehodnocená mrazením vykazuje hodnoty nižší, což je způsobeno degenerací těchto výživových látek mrazením a jejich následným vyplavením při

aplikaci krmení do vody. Dusíkaté látky obsahuje živá artemie v míře nejnižší a to 45,71 % zatím co artemie upravená mrazem hodnoty kolem 53 %, což je pravděpodobně způsobeno ztrátou vody vymražením (sublimací).

Na základě výsledků rozborů krmiva, ryb a výsledků růstu lze konstatovat, že dusíkaté látky se mrazením sice koncentrují, ale nejsou limitující pro růst halančička rýžovištního (*Oryzias latipes*).

Seznam použité literatury

Adámek, Z., 1999. Biologie halančička *Oryzias latipes* a metodika jeho chovu pro toxické testy. In: Dočkal, P., Maszjarová, E., (Eds.), Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. JCU VURH, Soláň, pp. 77-82.

Adámek, Z., Helešic, J., Maršálek, B., Rulík, M., 2009. Aplikovaná hydrobiologie. VÚRH JU Vodňany, 316 s.

Bruggeman, E., Sorgeloos, P., and Vanhaecke, P., Improvement in the decapulation technique of Artemia cyst, in The Brine Shrimp Artemia, Vol. 3, Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., and Jaspers, E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980, 216.

Burgess. *Bring back the unadulterated ricefish* [online]. [2005] [cit. 2009-12-17].

Dostupný z www:

<http://images.google.cz/imgres?imgurl=http://www.fbas.co.uk/Oryzias%2520latipes%2520%28egg%29.jpg&imgrefurl=http://www.fbas.co.uk/Ricefish.html&usg=__qwK1WnwnYYWiQzjnYGHBC8RU3t0=&h=2880&w=4428&sz=672&hl=cs&start=4&um=1&tbnid=UwGX8kybxL1N1M:&tbnh=98&tbnw=150&prev=/images%3Fq%3Doryzias%2Blatipes%26ndsp%3D21%26hl%3Dcs%26lr%3D%26sa%3DN%26um%3D1>.

Browne, Robert A.; Sorgeloos, Patrick ; Trotman, Clive N. A. . *Artemia biologi*. United States : CRC Press, 1991. 374 s.


Costa, J. E. M., 1998. Phylogeny and classification of *Rivulidae* revisited: Origin and evolution of annualism and miniaturization in rivulid fishes (*Cyprinodontiformes: Aplocheiloidea*). Journal of Computational Biology, 3, 33-92.

- Egami, N., 1959. Rekord of the numer of eggs obtained from a single pair of *Oryzias latipes* kept in laboratory aquaria. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. IV., 8, 521-538
- Egami, N., 1975. Secondary Sexual Characters. In: Yamamoto, T., (Ed.), MADAKA (killifish) : Biology and Strains. Keigaku Pub. Co., Tokyo, pp. 109-125.
- Eschmeyer, W. N., 2004. ITIS Standard report page: *Oryzias latipes*. URL: <<http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SyngleRpt>> [cit.2009-12-15]
- Guimareas, J. I. And Lira do Rego, F., The use of freese-dried Artemia as food for penaeid shrim larvae, in Artemia Research and Its Applications, Vol. 3, Sorgeloos, P., Bengtson, D. A., Declair, W., and Jaspers, E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980, 479.
- Halver, John Emil, Hardy, Ronald W. *Fish nutrition*. 3rd edition. John Emil Halver, Ronald W. Hardy. [s.l.] : [s.n.], 2003. s. 417.
- Huber, J. H., 2000: Killi – Data 2000. Liste actualisée des noms taxonomique, des localités de pêche et des références bibliographiques des poissons Cyprinodontes ovipares (*Atherinomorpha*, *Pisces*). Societě Francoise d'Ichtyologie, Paris, p. 538.
- Janata, W. R., Bell, D. J., and Keller, P.D., The DSIR-Artemia harvesting programme, in Artemia Research and Its Applications, Vol 3, Sorgeloos, P., Bengtson, D. A., Declair, W., and Jaspers, E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 1987, 517.

- Kirchen, R. V., West, W. R., 1969. The Japanese medaka. Care and development. Manuscript, karolina Biological Supply Co. Minneapolis, p. 497.
- Kočí, V., Rakovnický, T., Švagr, A. *Vscht.cz* [online]. 2001 [cit. 2010-03-18]. Test akutní toxicity na žábbronožkách *Artemia salina*. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/dokumenty/Artemia.htm>>.
- Lazara, K. J., 2000. The killifishes: an annotated checklist, synonymy, and bibliography of Recent oviparous cyprinodontiform fishes. *Journal of the American Killifish Association*, **4**, 315-495.
- Lovell, Tom. Proteins and amino acids. In *Nutrition and Frediny of fish*. [s.l.] : [s.n.], c1998. s. 23.
- Mareš, Jan. *Výživa a krmení ryb - úvod* [online]. MZLU v Brně, [2000] [cit. 2009-12-16]. Dostupný z WWW: <http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok_prednasky/Mare%C5%A1/Vyziva_krmeni.pdf>.
- Naruse, K., 1996. Classification and phylogeny of fishes of the genus *Oryzias latipes* and its relativem. *The fish biology journal Medaka*, Special issue: Development of Medaka biology in Japan – Part 1., **8**, 1-9.
- Novák, Petr. *Výživa kavarijních ryb - úvod*. *Výživa kavarijních ryb - úvod* [online]. 2008 [cit. 2009-12-14]. Dostupný z WWW: <<http://www.megabolid.cz/8-vyziva-kavarijnich-ryb-uvod/>>.

- Ojutiko. *Comparative Survival and Growth Rate of Clarias gariepinus and Heteroclarias Hathclings Fed Live and Frozen Daphnia* [online]. Department of Water Resources, Aquaculture and Fisheries, Federal University of Technology, Minna, Niger State, Nigeria : 2008 [cit. 2008-12-24]. Dostupný z WWW: <<http://www.pjbs.org/pjnonline/fin811.pdf>>.
- Oshima, M., 1919. Contributions to the study of the fresh water fishes of the island of Formosa. *Annals Carnegie Mus.*, 12, 169-328
- Overrein, Ingrid. *Zooplankton - treat them nice! : What happens to nutritional value of zooplankton during* [online]. SINTEF Fisheries and Aquaculture, N-7465 Trondheim, Norway : [2001] [cit. 2008-12-24]. Dostupný z WWW: <http://www.sintef.no/upload/Fiskeri_og_havbruk/Faktaark/Calanus%20finmarchicus%20as%20feed%20for%20fish%20larvae.pdf>.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J., 1995. Marine ($n-3$) polyunsaturated fatty acids. In: Hamilton, R.J. (Eds.), *Developments in Oils and Fats*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 32–65.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., Tocher, D.J., 1993a. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. In: Lahlou, B., Vitiello, P. (Eds.), *Aquaculture: Fundamental and Applied Research*. Coastal and Estuarine Studies 43, American Geophysical Union, Washington, DC, pp. 103–124.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., Tocher, D.R., 1993b. Docosahexaenoic acid and the development of brain and retina in fish. In: Drevon, C.A., Baksaas, I., Krokan, H.E. (Eds.), *Omega-3 Fatty Acids: Metabolism and Biological Effects*. Birkhäuser, Basel, Switzerland, pp. 139–149.

Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J. and Tocher, D.R., 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. Symposium of European Inland Fisheries Advisory Commission. *J. Appl. Ichthyol.* 11, pp. 183–198 Full Text via CrossRef

Sargent, J.R., McEvoy, L.A. and Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, pp. 117–127 Article |  PDF (916 K) | View Record in Scopus | Cited By in Scopus (166)

Sargent, JR, McEvoy, LA a Bell, JG, 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds . *Aquaculture* 155, pp. 117-127,

Sikora, Jiří. *Využití biotestů na jikrách halančička ORYZIAS LATIPES pro screeningové stanovení toxicity vod s výskytem sinicových vodních květů.* [s.l.], 2008. 97 s. Jihočeská univerzita v českých budějovicích, zemědělská fakulta, katedra rybářství.

Sogeloos, P., Persoone, G., Baeza-Mesa, M., Bossuyt, E., and Bruggeman, E., The use of Artemia cyst in Aquaculture: the cecept of hatching efficiency and description of a new method for cyst procesing, in Proc. 9th Annual Meeting World Mariculture Society, Avault, J. W., Jr., Ed., Luisiana State University, Baton Rouge, 1978, 715.

Steffens, Werner . Minerals. In LAIRD, L.M. . *Principles of fish nutrition.* [s.l.] : [s.n.], 1989. Minerals. s. 272-273.

Stefeens, Werner . Nutritiens : carbohydrates. In *Principles of fish nutrition.* [s.l.] : [s.n.], 1989. s. 155.

- Temminck, C. J., Schlegel H., 1846. Pisces. In: Siebold, P. F., (Ed.), Siebold's Fauna Japonova. Lunduni Batavorum, Leden, pp, 224-225.
- Thrush, M., Navas, J.M., Ramos, J., Bromage, N., Carrillo, M., Zanuy, S., 1993. Actas IV Congreso Nac. Acuicult., pp. 37-42.
- Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P., International Study on Artemia. XVIII. The hatching rate of Artemia cyst – a comparative study, Aquacult. Eng. 1, 263, 1982.
- Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P., International Study on Artemia. XIX. Hatching data for ten commercial sources of shrimp cysts and reevaluation of the hatching efficienci koncept, Aquaculture, 30, 43, 1983.
- Vítek, J., Kadlec, J., 2001 Halančící. Svět křídel, Cheb, 303 s.
- Watanebe, T., Oowa, F., Kitajina, C., and Fujita, S., Nutritional quality of brine shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoin of essential fatty acids for fish, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44, 1115, 1978.
- Yamamoto, T., 1975. Systematics and Zoogeography. In: Yamamoto, T., (Ed.), *Medaka, Biology and Strains*. Yugakusya Publ., Tokyo, pp 17-29.
- "Introductory Remarks on the Medaka" in *Medaka, Biology and Strains* (T. Yamamoto, ed.), Yugakusya Publ. (1975), pp. 1-16.

Sacharidy ve výživě ryb [online]. c2009 [cit. 2009-12-16]. Dostupný z WWW:
<<http://www.primat.cz/mendelu/predmety/rybarstvi-q3384/sacharidy-ve-vyzive-ryb-m17872/>>.

<http://www.drpez.com/>

Akvarijní ryby - potrava a základní výživa : Akvarijní ryby - potrava a základní výživa [online]. [2009] [cit. 2009-12-16]. Dostupný z WWW:
<<http://www.chovatelstvi.cz/krmiva/akvarijni-ryby-potrava-a-zakladni-vyziva/>>.

Základní výživa [online]. [2008] [cit. 2009-12-16]. Dostupný z WWW:
<<http://rybicky.net/rady/krmeni/>>.

Seznam zkratk:

AA - kyselina arachidonová

BNLV – bezdusíkaté látky výtažkové

DHA - kyselina dokosaheptaenová

EPA - eikosapentaenová kyselina

FA - mastné kyseliny, fatty acids

FROV – Fakulta rybářství a ochrany vod

HUFA - vysoce nenasycené (Highly Unsaturated Fatty Acids)

MUFA - monoenové mastné kyseliny (Mono Unsaturated Fatty Acids)

NL - dusíkaté látky

PUFA - polyenové mastné kyseliny (Poly Unsaturated Fatty Acids)

Seznam obrázků, grafů a tabulek:

Obr. 1 - Areál rozšíření rodu *Oryzias*

Obr. 2 - Pohlavní dimorfismus medaky japonské

Obr. 3 - Jikra *Oryzias latipes* s kořínkovými vlákny

Obr. 4 - Strukturální vzorce mastných kyselin /zdroj internet:

Obr. 5 - Strukturální vzorce aminokyselin /zdroj internet:

Obr. 6 - a) Vylíhlý nauplius artemie, b) Trvalá vajíčka artemie.

Graf č. 1 - Růst halančíka rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 2 - Přežití halančíka rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 3 - Růst halančíka rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 4 – Celková délka těla ryb ve sto dnech

Graf č. 5 - Přežití halančíka rýžovištního na základě různé diety

Graf č. 6 – Přežití halančíka rýžovištního v závislosti na dietě ve 40 dnech pokusu

Tabulka č. 1 - Živinové složení artemie.

Tabulka č. 2 - Garantovaný obsah živin v krmivu HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS

Tabulka č. 3 - Přidané živiny do krmiva HIKARI TROPICAL MICRO PELLETS

Tabulka č. 4 - Výsledky rozborů krmiva – artemie

Tabulka č. 5 - Biochemické složení ryb.

Souhrn

Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*.

Nutriční účinnost hluboce zamrazeného a opakovaně rozmrazeného zooplanktonu je často zpochybňována, avšak konkrétní údaje o změnách ve složení živin a nutriční účinnosti takto znehodnoceného krmiva chybí. Cílem práce bylo vyhodnotit nutriční účinnost opakovaně rozmrazených nauplií *Artemia salina* a změny jejich chemického složení na základě růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*. Jako kontrola sloužily vzorky čerstvě vylíhlých, živých, nauplií. Pokus probíhal se vzorky živých, trvale zamrazených na -25 °C, rozmrazených na 0 °C a opět zamrazených a rozmrazených na +25 °C a opět zamrazených nauplií. Do pokusu byly nasazeny larvy halančíků v době přechodu na vnější potravu. Před zahájením pokusu a po jeho skončení bylo ve vzorcích krmiv (artemie) stanoveno jejich složení s ohledem na obsah živin.

Při pokusech bylo zjištěno, že halančík rýžovištní *Oryzias latipes* krmený mrazenou potravou lépe přežíval, než ten, který byl krmen živou artemií. Dále bylo zjištěno, že ryby krmené živou artemií rostly lépe v porovnání s těmi, které byly krmeny zmrazenou artemií. Deformace ryb nebyly zjištěny žádné. Nutriční hodnota artemie je nejvyšší, je-li podávána živá. Po úpravě zamrazením se některé výživové látky snižují.

Klíčová slova: *Oryzias latipes*, *Artemia salina*, nutriční účinnost opakovaně rozmrazeného zooplanktonu;

The influence of repeated defrosting on nutritional efficiency of *Artemia salina* nauplii for Japanese medaka *Oryzias latipes*

Nutritional efficiency of deeply frozen and repeatedly defrosted zooplankton is often questioned however, concrete data on the changes in ~~the~~ nutrients composition and effect of such deteriorated feed are missing. The aim of this work is to assess nutritional efficiency of repeatedly defrosted nauplii *Artemis salina*, as well as changes in their chemical composition on the basis of the growth, survival and malformation occurrence in the course of medaka ontogenesis.

The samples of fresh hatched *Artemia* nauplii served as a control. The experiment was made with Japanese medaka larvae since their shift to exogenous nutrition using live nauplia, permanently frozen (-25 °C), defrosted to 0 °C and frozen, and defrosted to +25 °C and frozen again.

Before the commencement of the experiment and afterwards, food samples were analyzed for the composition in terms of nutrient content.

The trials proved that *Oryzias latipes* fed frozen food survived better than those was fed live *Artemia*. It was also found that fish fed live *Artemia* grew better compared with those that were fed frozen brine shrimp. No malformations appeared in experimental fish. Nutritional value of *Artemia* is highest when supplied live. After adjusting shiver with some nutritional substances be reduced.

Key words: *Oryzias latipes*, *Artemia salina*, nutritional efficiency of repeatedly defrosted zooplankton

Přílohy:

Seznam příloh:

Příloha č. 1 - Obsah mastných kyselin v *Artemia salina* z různých lokalit

Příloha č. 2 - Obsah mastných kyselin u vybraných planktonních druhů

Příloha č. 3 – Aparatura k líhnutí artemie

Příloha č. 4 – Odchovná nádrž využívaná k pokusu

Příloha č. 5 – Průběh teplot v pokusu prováděném v termínu 5. 5. – 15. 6. 2009

Příloha č. 6 – Průběh teplot v pokusu prováděném v termínu 17. 9. 2009 – 24. 1. 2010

Příloha č. 1 - Obsah mastných kyselin v *Artemia salina* z různých lokalit

zdroj internet:

<http://rms1.agsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/20-3203.pdf>

(upraveno)

<i>Artemia nauplii</i>		
Fatty acid	Canada	San Francisco
	Newly-hatched	Newly-hatched
16:0	9.9	10.1
16:1 ω 7	10.1	7.0
18:0	7.9	3.6
18:1 ω 9	32.3	32.7
18:2 ω 6	5.1	6.3
18:3 ω 3	14.1	24.4
18:4 ω 3	1.4	3.8
20:0		
20:1	1.0	0.4
20:3 ω 3	2.1	1.1
20:4 ω 6		
20:4 ω 3	0.6	0.8
20:5 ω 3	5.2	1.6
22:5 ω 3	—	—
22:6 ω 3	—	—
$\Sigma\omega$ 3 HUFA	5.8	2.4

Příloha č. 2 - Obsah mastných kyselin u vybraných planktonních druhů

(Adámek et al., 2009)

Organism FAs	16:1 (n-7)	18:1 (n-9)	18:2 (n-6)	18:3 (n-3)	C-20 polyens	C-22 polyens
Cyclopids (Copepoda)						
<i>Cyclops strenus</i>	2.3	3.6	2.2	7.6	17.0	35.9
<i>Eudiaptomus gracilis</i>	6.3	5.3	10.4	5.5	15.2	13.6
Daphnides (Daphnidae)						
<i>Daphnia magna</i>	4.2	20.9	4.1	13.4	24.8	0
<i>Daphnia cucullata</i>	8.6	9.3	8.4	6.8	13.9	3.4
Dragonfly larvae	3.5	13.0	10.7	12.0	17.1	1.7
Chironomus larvae	5.3	9.7	14.4	8.8	9.7	1.6

Příloha č. 3 – Aparatura k líhnutí artemie

vlastní fotodokumentace

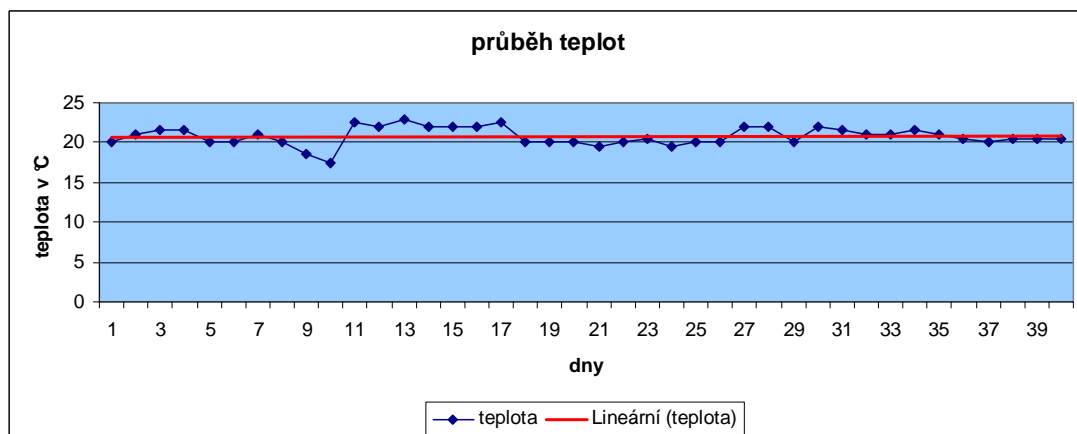


Příloha č. 4 – Odchovná nádrž využívaná k pokusu

vlastní fotodokumentace



Příloha č. 5 – Průběh teplot v pokusu prováděném v termínu 5. 5. – 15. 6. 2009



Příloha č. 6 – Průběh teplot v pokusu prováděném v termínu 17. 9. 2009 – 24. 1. 2010

