



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

TECHNICKÁ ZPRÁVA PROJEKTU

Název projektu:

**Inovace v chovu larev, juvenilních,
remontních, generačních ryb
lipana podhorního**

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Příjemce (veřejnoprávní subjekt):

Obchodní firma nebo název: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225

Název projektu: Inovace v chovu larev, juvenilních, remontních, generačních ryb lipana podhorního.

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna vědecký subjekt zastupovat:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

Partner projektu (podnik akvakultury spolupracující na projektu s příjemcem):

Název nebo obchodní jméno: Rybářství Nové Hrady s.r.o.

Adresa: Štiptoň 78, 374 01 Nové Hrady

IČ: 15789799

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna příjemce dotace zastupovat:

Lubomír Zvonař

Zpracovatel technické zprávy projektu:

Název nebo obchodní jméno: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 5. 5.2023

Jména a příjmení osob, které zpracovaly technickou zprávu:

doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

Mgr. Tomáš Pěnka

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna zpracovatele technické zprávy zastupovat:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Souhlas s publikací technické zprávy:

Souhlasím se zveřejněním této technické zprávy projektu v rámci opatření 2.1. v rámci Operačního programu Rybářství 2014-2020 na internetových stránkách Ministerstva zemědělství a s využíváním výsledků této technické zprávy všemi subjekty z odvětví rybářství.

1. Příjemce dotace (veřejnoprávní subjekt):

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

2. Partner projektu (podnik akvakultury):

Lubomír Zvonař

3. Zpracovatel technické zprávy:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



Obsah

1 Cíl	6
1.1 Co bylo cílem projektu	6
1.2 V čem tkví inovativnost testované technologie	7
1.3 Proč je nutná inovace, která byla předmětem testování.....	8
2 Úvod	8
3 Průběh a harmonogram řešených aktivity v rámci projektu.....	10
4 Optimalizace intenzivní chov larev a juvenilních ryb lipana podhorního vylepšenou první a následnou exogenní výživou v RAS	11
4.1 Materiál a metodika	11
4.2 Výsledky	14
4.3 Závěr.....	15
5 Optimalizace efektivního intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního od 77. do 140. dne exogenní výživy v kontrolovaných podmínkách RAS pomocí tří testovaných kvalitních peletovaných krmiv.....	15
5.1 Materiál a metodika	15
5.2 Výsledky	17
5.3 Závěr.....	18
6 Vylepšená a optimalizovaná umělá výživa juvenilních ryb lipana podhorního odchovávaných v intenzivním chovu RAS pomocí nutričně vybalancovaného experimentálního krmiva z hlediska obsahu bílkovin a tuků	19
6.1 Materiál a metodika.....	19
6.1.1 Analýzy složení celého těla a hřbetní svaloviny odchovaných juvenilních ryb	22
6.1.2 Krevní biochemické, antioxidační a imunitní analýzy.....	22
6.1.3 Koncentrace amoniaku v krevní plazmě odchovaných ryb a vylučování amoniaku do vody odchovanými rybami.....	23
6.2 Výsledky	24
6.3 Závěr.....	35
7 Vliv různé počáteční hustoty odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního na jejich přežití, růst, tělesnou kondici a konverzi předkládaného krmiva v rámci jejich intenzivního chovu v RAS	36
7.1 Materiál a metodika.....	36
7.2 Výsledky	37
7.3 Závěr.....	38
8 Následný odchov ročních remontních ryb lipana podhorního v různých podmínkách chovu s cílem získat kvalitní pohlavně dospělé a zralé mladé generační ryby	39
8.1 Materiál a metodika.....	39
8.2 Výsledky	41
8.3 Závěr.....	44
9 Výtěr odchovaných mladých generačních ryb z přírodního náhonu a vyhodnocení jejich první reprodukce v průběhu výtěrového období	45



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

9.1 Materiál a metodika	45
9.2 Výsledky	47
9.3. Závěr	47
10 Závěr realizovaného projektu	48
11 Seznam fotodokumentace	50



1 Cíl

1.1 Co bylo cílem projektu

Cílem projektu bylo optimalizovat intenzivní chov larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) vylepšenou první a následnou exogenní výživou. Následně od 77. do 140. dne exogenní výživy byl u juvenilních ryb optimalizován jejich efektivní intenzivní chov v kontrolovaných podmínkách RAS (Recirkulační Akvakulturní Systém) pomocí tří testovaných kvalitních peletovaných krmiv značky Otohime Biomar a Skretting s cílem dosáhnout vysokého přežití, dobrého tělesného vývoje bez deformit a vysokého růstu ryb. U juvenilních ryb od 146. dne exogenní výživy byla v rámci jejich intenzivního chovu v RAS po dobu 84 dní optimalizovaná umělá výživa pomocí nutričně balancovaného experimentálního krmiva z hlediska obsahu bílkovin (30, 40 a 50 %) a tuků (10 a 20 %). Poté, v další fázi projektu od 253. dne exogenní výživy odchovávaných ryb byl po dobu 112 dní zjišťován vliv různé počáteční hustoty odchovávaných lipanů podhorních na jejich přežití, růst, konverzi předkládaného krmiva a další produkční ukazatele. Po prvním roce intenzivního chovu lipana podhorního, byly odchované remontní ryby vysazeny do dalšího odchovu s cílem za 10 měsíců odchovu získat mladé generační ryby ve věku 22-23 měsíců. U odchovávaných ryb v přírodních a kontrolovaných podmínkách chovu se v průběhu odchovu pravidelně kontroloval kondiční stav ryb a vývoj gonád s cílem vyhodnotit a porovnat odchovy mladých generačních ryb. Na konci tohoto odchovu, který ukončoval také i vlastní realizaci tohoto projektu, byly mladé generační ryby z přírodních podmínek připravené na výtěr. Umělý výtěr těchto odchovaných ryb byl realizován od 14.4. do 5.5. 2023 a celkově bylo v těchto termínech výtěru úspěšně vytřeno 27,1 % jikernaček a 39,4 % mlíčáků z celkového počtu odchovaných ryb. U jikernaček byla hodnocena absolutní a relativní plodnost a dále byla zjišťována průměrná velikost a hmotnost jedné získané neoplozené jikry a po oplození jiker zjišťována míra oplozenosti jiker a líhnivosti larev.

Z výše uvedené sumarizace výsledků projektu je možné konstatovat, že cíl projektu, kterým byla inovace intenzivního chovu lipana podhorního realizovaného v kontrolovaných podmínkách RAS, byl plně dosažen. Projekt detailně popsal a ukázal na možnost efektivního odchovu larev, juvenilních, remontních a mladých generačních ryb připravených na výtěr. Projekt také vyhodnotil úspěšný umělý výtěr nově získaných mladých generačních ryb ve věku 22-23 měsíců. V budoucnosti počítáme, že popsaná dosažená technologická inovace intenzivního chovu lipana podhorního bude dále aplikována a více propracována v produkční praxi rybářských podniků či svazů. Díky tomu dojde v české rybářské praxi k rozšíření produkčního portfolia o jeden cenný druh, u kterého se může významně navýšit objem produkce násadových a tržních ryb v ČR. Tyto výsledky mohou přinést zvýšenou rentabilitu a konkurenceschopnost podnikům využívající RAS k produkci různých cenných druhů ryb jak v ČR, tak také v Evropě. Produkční podniky, které budou v budoucnosti vedle lipana podhorního produkovat také jiné cenné druhy ryb, budou moci díky výsledkům tohoto projektu produkovat větší objem násadových a tržních ryb lipana při relativně nižších provozních a energetických nákladech. Takovéto podniky budou obecně uplatňovat vyprodukované druhy ryb na trhu s vyšší efektivitou, objemem a rentabilitou, než podniky produkující tradiční druhy ryb jako je např.: kapr obecný (*Cyprinus carpio*). Díky tomu zmíněná inovace popsaná v této zprávě může zajistit podnikům významnou úsporu provozních nákladů a na druhé straně vyšší produkci cenných násadových či tržních ryb, což může dále zvýšit jejich tržby, zisk a rentabilitu chovu a prodeje ryb. Zmíněné souvislosti dále potencionálně mohou podpořit i vyšší konkurenceschopnost českých produkčních podniků v blízké budoucnosti.



1.2 V čem tkví inovativnost testované technologie

Snahou realizace projektu bylo poprvé v ČR inovovat intenzivní chov lipana podhorního realizovaného v kontrolovaných intenzivních podmínkách využívající RAS technologii. Do začátku projektu č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225 nebyl v ČR realizován podobný takto komplexní projekt od larválního stádia po generační ryby a jejich výtěr. Snahou projektu bylo detailně popsat a ukázat možnost efektivního odchovu larev, juvenilních, remontních a generačních ryb tohoto druhu s následnou realizací umělého výtěru u odchovaných mladých generačních ryb. Díky tomuto projektu může v blízké budoucnosti dojít u rybářských podniků zabývajících se intenzivním chovem ryb k rozšíření produkčního portfolia o jeden cenný druh. Tyto výsledky mohou přinést zvýšenou rentabilitu a konkurenceschopnost podniků využívající RAS, jak v ČR, tak také v Evropě. V rámci projektu se jedná o inovaci intenzivního chovu ryb, která je založená na nových vědomostech a profesních zkušenostech přinášející budoucí prosperitu a zvyšující konkurenceschopnost českému produkčnímu rybářství. Současně inovace dosažená projektem může v budoucnu významně zvýšit druhovou biodiverzitu ichtyofauny ve volných vodách právě vysazováním uměle odchovaných násad lipana podhorního.

Projekt byl zaměřen na zavedení a optimalizaci intenzivního chovu nového velmi cenného a perspektivního druhu – lipana podhorního do českého rybářského sektoru. Cílem bylo zvládnout základní technologické postupy intenzivního chovu tohoto druhu a postupně ho ve spolupráci s produkčním partnerem či partnery zavádět do jejich chovatelské praxe. Díky výsledkům projektu může dojít k zefektivnění intenzivního chovu ryb v ČR. Projekt může přispět obecně k zvýšení produkce násadových a tržních ryb v ČR, k zvýšení konkurenceschopnosti českého produkčního rybářství v Evropě.

Řešení projektu navázalo na již realizované pilotní (inovační) projekty, které se věnovaly optimalizaci intenzivního chovu lososovitých ryb a lipana podhorního v RAS podmínkách s cílem tyto druhy efektivně intenzivně odchovávat k produkci násadových či tržních ryb a podporovat tak diverzifikaci sladkovodní akvakultury v ČR potažmo v Evropě:

CZ.1.25/3.4.00/09.00532 Ověření technologie dánského recirkulačního systému pro intenzivní chov pstruha duhového

CZ.10.2.101/2.1/0.0/17_011/0000453 Zvýšená produkce lososovitých ryb v RAS díky jejich zlepšenému zdravotnímu a fyziologickému stavu,

CZ.1.25/3.4.00/09.00537 Technologie chovu lososovitých druhů ryb s využitím nových preventivních a terapeutických postupů

CZ.1.25/3.4.00/10.00314 Ověření technologie hormonální synchronizace umělého výtěru jikernaček lososovitých ryb

CZ.1.25/3.4.00/10.00324 Ověření technologie odchovu ročka pstruha obecného (*Salmo trutta* m. fario L.) v kontrolovaných podmínkách

CZ.1.25/3.4.00/10.00325 Ověření technologie hromadné indukce triploidie u pstruha duhového v provozních podmínkách

CZ.1.25/3.4.00/11.00375 Ověření technologie odchovu čtvrtročka lipana podhorního pro zarybňování volných vod

CZ.1.25/3.4.00/12.00075 Ověření technologie odkulovacích substrátů u pstruha obecného f. potoční (*Salmo trutta* m. fario)

CZ.1.25/3.4.00/12.00116 Ověření technologie chovu remontních lipanů (*Thymallus Thymallus* L.) v kontrolovaných podmínkách



1.3 Proč je nutná inovace, která byla předmětem testování

Současná produkce lipana podhorního je v České republice velmi nízká, tedy nedostatečná a kvalitativně a kvantitativně nevyrovnaná. Velmi často je realizována dobrovolníky Českého či Moravského rybářského svazu, kteří nemají k profesionální rybářské práci vytvořeny ideální chovatelské a produkční podmínky. Produkci juvenilních či remontních ryb lipana podhorního se nezabývají žádné tradiční české rybářské podniky. Obecně je chov lipana podhorního velmi náročný, jelikož ryby tohoto druhu jsou ve všech věkových kategoriích extrémně citlivé na stres a náročné na kvalitu potravy a podmínky prostředí. Vedle nízké produkce násadových či remontních ryb současně dochází i ke snižování stavů divoce se vyskytujících lipanů podhorních ve volných vodách vlivem přemnožení rybožravých predátorů, vysokému tlaku sportovních rybářů na revírech a nešetrným úpravám toků. Ze zmíněných důvodů poměrně realisticky hrozí, že dojde k výraznému snížení stavu divokých populací lipana podhorního či k jeho úplnému vyhubení.

Realizace projektu č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225 si kladla za cíl dosáhnout technologické inovace chovu lipana podhorního moderními metodami chovu, čímž je vyžití intenzivní akvakultury založené na RAS technologii. Snahou bylo zoptimalizovat odchov larev, juvenilních, remontních a generačních ryb s cílem dosahovat efektivní produkce násadových či pohlavně zralých ryb připravených na výtěr. Finálně vyřešený projekt přinesl velmi zajímavé praktické výsledky, které jsou detailně popsány níže v této zprávě, a které bude možné v budoucnosti využít k efektivní, kontinuální a vyrovnané produkci násadových juvenilních či mladých generačních ryb připravených k výtěru. Současně projekt ukázal, jak je možné v rámci intenzivní akvakultury využívat RAS v kombinaci s nějakým přírodním finálním chovem remontních ryb, efektivně odchovávat lipana podhorního ve všech věkových kategoriích. Dále projekt ukázal, jak tato koncepce chovu lipana podhorního efektivně využívá kapacity chovu, tedy efektivně využívá všechny produkční náklady na chov jako je obsluha, energie, krmivo a další, což zajišťuje poměrně významnou rentabilitu tohoto chovu.

Výsledky realizovaného projektu v budoucnu umožní českým rybářským podnikům či svazům efektivně a kontinuálně produkovat kvalitní násadový či generační materiál lipana podhorního. Tato činnost následně posílí stavy lipana podhorního ve volných vodách. Současně výsledky projektu pomohou dále do praxe zavádět a optimalizovat technologii intenzivní akvakultury a efektivně produkovat nový cenný druh – lipana podhorního. Zmíněná aktivita může v budoucnosti významným způsobem zvýšit efektivitu a rentabilitu intenzivních chovů ryb. Tato zvýšená rentabilita chovů může být především zajištěna zvýšeným odbytem produkovaných ryb a zvýšenými tržbami rybářských podniků či svazů, které v budoucnosti půjdou touto cestou produkce ryb v ČR.

2 Úvod

České produkční rybářství produkuje z 80 % pouze jeden tržní druh ryby, kterým je kapr obecný. Tato produkce ročně dosahuje cca 18 000 tun a je velmi silného sezónního charakteru. Hlavním prodejním obdobím je podzimní, zimní či jarní období, kdy se v průběhu několika dní prodá většina této produkce. Jednostranná a sezónní produkce, která je současně ještě realizovaná z 50 % v živých rybách, nepřináší produkčním rybářům v ČR dobré finanční zhodnocení a dochází k snižování jejich rentability. Většina českých rybářských podniků je silně ohrožena charakterem této produkce a současně konkurencí ze strany zahraničních podniků



(Polícar a kol., 2019). Aby došlo k udržení konkurenceschopnosti našich produkčních podniků, je nutné se neustále snažit o chovatelsko-technologickou inovaci s cílem diverzifikovat produkci z hlediska druhů a současně i termínu realizace prodeje ryb. V posledních patnácti letech je snahou chovatelů ryb v celé Evropě vedle tradičních druhů ryb (jako je kapr obecný, pstruh duhový – *Oncorhynchus mykiss*, lín obecný – *Tinca tinca*, sumec velký – *Silurus glanis*, býložravé ryby atd.) chovat ve větším měřítku cennější druhy (jako je: candát obecný – *Sander lucioperca*, okoun říční – *Perca fluviatilis*, úhoř říční – *Anguilla anguilla*, jeseteři rodu *Acipenser*, sumeček africký – *Clarias gariepinus*, mník jednovousý – *Lota lota* atd.) intenzivní akvakulturou využívající RAS technologii. Cílem této činnosti je dosáhnout vyšší a kontinuální produkce tržních či násadových ryb, která by odpovídala požadavkům současného trhu v Evropě (Polícar a kol., 2017). Intenzivní chovy ryb jsou v současné Evropě velmi rychle se rozvíjejícím sektorem rybářství, a i v České republice můžeme sledovat rozvoj celé řady firem (např.: Tilapia, NDCon, BioFish, Blatenská ryba, Future Farming, ZOD Milín atd.), které chtějí v budoucnosti využívat tuto technologii k produkci tržních či násadových ryb (Kouřil a kol., 2018). V současné době tyto společnosti v ČR disponují kapacitou intenzivních chovů v ročním objemu produkce ryb až 2000 tun. Ovšem ekonomika a rentabilita chovu těchto podniků závisí na zvoleném a produkovaném druhu, managementu produkce, chovatelských zkušenostech, technologickém vybavení a marketingu. Většina našich podniků zabývajících se intenzivní akvakulturou produkuje pouze omezené množství druhů a to konkrétně – pstruha duhového a sumečka afrického nebo sumce velkého. Potom jejich marketing a realizovaná prodejní cena může být velmi často na nízké úrovni, což negativně ovlivňuje jejich rentabilitu. Snahou produkčních podniků využívajících intenzivní akvakulturu musí být opět vysoká diverzifikace jejich produkce. Tyto podniky si musí neustále osvojovat nové druhy nebo vyvíjet nové výrobky v rámci jejich zpracoven ryb (Polícar a kol., 2019).

Ze zmíněných důvodů cílem tohoto projektu bylo v experimentálních a poloprovozních podmínkách ověřit chovatelsko-technologickou inovaci chovu lipana podhorního v intenzivních podmínkách využívající RAS technologii v kombinaci s následujícím využitím průtočného přírodního systému s dočišťováním vody pro finální chov mladých generačních ryb. Projekt navázal na dřívější technologické inovace v chovu lipana podhorního, které byly realizované především v extenzivních či méně kontrolovaných podmínkách s nižší účinností a efektivitou odchovu všech věkových kategorií (Pokorný a Kouřil, 1999; Randák a kol., 2009; 2014; 2019).

Lipan podhorní se totiž v budoucnosti může stát významným a cenným produkovaným druhem, který bude odchovávaný našimi rybáři v intenzivních akvakulturách s cílem získávat kvalitní násadový materiál do volných vod nebo mladé generační či tržní ryby pro vysazení do volných vod, využití v komerčních sportovních revírech (Randák a kol., 2012) nebo dokonce pro lidský konzum. Realizace poslední možnosti v produkčním měřítku není příliš pravděpodobná, jelikož chov lipana podhorního je velmi technologicky a chovatelsky náročný. Kdyby se ovšem realizoval, pravděpodobně jeho produkce by se využívala především jako velmi ceněného vývozního artiklu do zemí jako je Dánsko, Litva, Estonsko a Švédsko, kde by se pravděpodobně tržní lipani konzumovali v luxusních restauracích či hotelech (Szmyt a kol., 2021).



Použitá literatura:

- Pokorný, J., Kouřil J., 1999. Chov lipana a jeho umělý výtěr. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, Metodika č. 59, VÚRH JU, Vodňany, 18 s.
- Polícar, T., Blecha, M., Křišťan, J., Malinovskyi, O., Vaniš, J., 2017. Může být kombinace rybníčního a intenzivního chovu candáta obecného (*Sander lucioperca* L.) úspěšně využita v rámci českého produkčního rybářství? In: Urbánek, M. (ed.): 4. ročník odborné konference Rybářské sdružení České republiky. Sborník referátů z odborné konference, České Budějovice 9. – 10. února 2017, 33–41.
- Polícar T., Křišťan J., Malinovskyi O., Yanes-Roca C., 2019. Možnosti diverzifikace a posílení konkurenceschopnosti české akvakultury. In: Urbánek, M. (ed.): Sborník referátů 5. ročníku odborné konference, České Budějovice 14.-15.2.2019, 87–92.
- Randák, T., Turek, J., Kolářová, J., Kocour, M., Kouřil, J., Hanák, R., Velíšek, J., Žlábek, V., 2009. Technologie chovu generačních lipanů podhorních za účelem udržitelné produkce kvalitního násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 97: 24 s.
- Randák, T., Turek, J., Lepič, P., Kolářová, J., 2012. Technologie chovu čtvrtročka lipana podhorního pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 132: 22 s.
- Randák, T., Turek, J., Červený, D., Kolářová, J., Lepič, P., Grabic, R., Žlábek, V., 2014. Produkce juvenilních kategorií pstruha obecného a lipana podhorního pro zarybňování volných vod. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 155: 29 s.
- Szmyt, M., Piech, P., Panasiewicz, G., Niewiadomski, P., Pietrzak-Fiećko, 2021. Gonadal steroid fluctuations and reproduction results of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) from broodstock farmed in a recirculation aquaculture. *Animal Reproduction Science*: 224, 106648.

3 Průběh a harmonogram řešených aktivity v rámci projektu

Tento projekt č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225 „Inovace v chovu larev, juvenilních, remontních, generačních ryb lipana podhorního“ byl fyzicky realizován od 1.6.2021 do 5.5.2023 v rámci úzké spolupráce mezi vědeckými a odbornými pracovníky z Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (FROV JU) a pracovníky podniku Rybářství Nové Hrady s.r.o. Realizace projektu byla zahájena na obou pracovištích po pečlivé přípravě níže popsaných rybochovných zařízení, kde bylo postupně realizováno celkově šest dílčích poloprovozních experimentů či studií. Všechny experimenty byly provedeny paralelně na obou pracovištích (FROV JU a Rybářství Nové Hrady s.r.o.) s cílem minimalizovat rizika intenzivního chovu všech věkových kategorií lipana podhorního a dosáhnout tak plánovaných kvalitních výsledků. Jestliže byly použity jednotlivé odchovné nádrže v rámci realizovaných experimentů či studií na obou pracovištích, tak tyto nádrže posloužily při matematicko-statistickém zpracování výsledků jako jednotlivá opakování.

Tyto experimenty měly postupně za cíl popsat a zhodnotit: 1) optimalizaci efektivního intenzivního chovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního vylepšenou první a následnou exogenní výživou v RAS při nepřetržitém světelném režimu aplikovaného od 1. do 63. dne exogenní výživy po dobu 63 dní od 1.6.2021 do 10.8.2021, 2) efektivitu intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního od 77. do 140. dne exogenní výživy v kontrolovaných podmínkách RAS pomocí tří testovaných kvalitních peletovaných krmiv podávaných po dobu 63 dní od 24.8. 2021 do 26.10. 2021, 3) vylepšenou a optimalizovanou umělou výživu



juvenilních ryb lipana podhorního odchovávaných v intenzivním chovu RAS pomocí nutričně vybalancovaného experimentálního krmiva z hlediska obsahu bílkovin (30, 40 a 50 %) a tuků (10 a 20 %) aplikovanou v průběhu 84 dní od 146. do 230. dne exogenní výživy v termínu od 1.11.2021 do 24.1.2022, 4) vliv různé počáteční hustoty (3,55 – 28,4 kg.m⁻³) odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního na jejich přežití, růst, tělesnou kondici a konverzi předkládaného krmiva v rámci jejich intenzivního chovu v RAS po dobu 112 dní od 253. do 365. dne exogenní výživy v období od 15.2. do 31.5. 2022, 5) následný odchov ročních remontních ryb v různých podmínkách chovu s cílem získat kvalitní pohlavně dospělé a dozralé generační ryby v průběhu 10 měsíců v termínu od 13.6.2022 do 13.4.2023, 6) výtěr odchovaných mladých generačních ryb a vyhodnocení jejich první reprodukce v průběhu výtěrového období od 14.4. do 5.5.2023. Dále došlo k závěrečné sumarizaci, matematicko-statistickému zpracování všech získaných výsledků a k přípravě této technické zprávy.

4 Optimalizace intenzivní chov larev a juvenilních ryb lipana podhorního vylepšenou první a následnou exogenní výživou v RAS

4.1 Materiál a metodika

Cílem projektu bylo optimalizovat intenzivní chov larev a juvenilních ryb lipana podhorního vylepšenou první a následnou exogenní výživou. V průběhu řešení projektu došlo v rámci odchovu larev a juvenilních ryb k využití vysoce kvalitního startérového peletovaného krmiva Otohime, který je efektivně využíván v intenzivním chovu candáta obecného (Polícar a kol., 2021) obohaceného o vitamíny C, D₃, E s přídavkem živé potravy (mražené rozemleté patentky) na úrovni 35% denní krmné dávky. Toto krmení ryb bylo testováno při nepřetržitém světelném režimu (24 hodin denně) do 63. dne od začátku exogenní výživy.

Dne 31.5.2021 došlo k nákupu rozplavaných larev s TL = 14,8 ± 0,7 mm a W ± 19,5 ± 1,7 mg lipana podhorního se zbytkem žloutkového vajíčka na rybí líhni NP Šumava v Borové Ladi v celkovém množství 38 720 ks. Tyto larvy byly transportovány v polyetylenových pytlích s kyslíkovou atmosférou přímo do předem připravených odchovných žlabů napojených na místní RAS v rámci experimentálního (FROV JU) a produkčního chovu ryb (Rybářství Nové Hradky s.r.o.). Larvy byly na FROV JU vysazeny do osmi dlouhých nízkých žlabů (délka: 2 600 x šířka: 500 x výška: 200 mm) s výškou vodního sloupce 115 mm o objemu 150 litrů v počáteční hustotě 20 ks.l⁻¹. Celkem tedy byly larvy vysazeny v množství 24 000 ks do čtyř skupin po dvou opakováních. V podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. byly larvy vysazeny do čtyřech nízkých dlouhých odchovných žlabů (délka: 4 000 x šířka: 400 x výška: 300 mm) s výškou vodního sloupce 115 mm o objemu 184 litrů ve stejné počáteční hustotě jako na FROV. Celkem v podniku Rybářství Nové Hradky s.r.o. bylo vysazeno a na počátku odchováno 14 720 ks larev ve čtyřech skupinách bez opakování. Tímto bylo dosaženo, že larvy byly odchovány na dvou místech, jak v experimentálních, tak i provozních podmínkách. Každá testovaná skupina larev a juvenilních ryb byla testována celkem ve třech opakování od 1. do 63. dne exogenní výživy.

Larvy začaly přijímat první exogenní výživu dne 1.6.2021, tzn. jeden den po nasazení larev do odchovných žlabů. V tento den byly vytvořeny na obou místech odchovu ryb čtyři následující testovací skupiny zahrnující odlišný krmný režim larev a následně juvenilních ryb:

První skupina (O): bylo použito krmivo Otohime B1 (1–14. den exogenní výživy), Otohime B1 a B2 (15.–21. den exogenní výživy), Otohime B2 a C1 (22.–28. den exogenní výživy), Otohime C1 a C2 (29.–35. den exogenní výživy), Otohime C2 a S1 (36.–42. den exogenní výživy), Otohime S1 (43.–49. den exogenní výživy) a Othomie S1 – S2 (50.–63. den exogenní výživy).



Druhá skupina (OV): bylo použito krmivo Otohime stejně jako u první skupiny s tím, že krmivo bylo medikované vitamínem C (přípravek Vitamin C PG 100 % plv sol od firmy Pharmagal s.r.o.) v dávce 10 g.kg⁻¹ krmiva a přípravkem Kombisol Multi od společnosti Trouw Nutrition Biofaktory v dávce 5 ml.kg⁻¹ krmiva (Pěnka a kol., 2021) s cílem zvýšit signifikantně obsah vitamínu C, D3 a E v předkládaném krmivu,

Třetí skupina (OP): bylo použito krmivo Otohime jako u první skupiny s přidavkem živé potravy (mražené rozeleté patentky) na úrovni 35% denní krmné dávky s cílem obohatit krmnou dávku o biologicko-aktivní látky jako jsou přirozené enzymy,

Čtvrtá skupina (OVP): bylo použito krmivo Otohime jako u první skupiny s medikací vitamínů jako u druhé skupiny a přidavkem živé potravy jako u třetí skupiny s cílem krmnou dávku obohatit jak o vitamíny, tak i další biologicko-aktivní látky.

Základní nutriční složení použitých testovaných krmiv v jednotlivých použitých experimentálních skupinách jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1. Nutriční složení krmiv použitých při intenzivním odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v RAS od 1. do 63. dne exogenní výživy.

Ukazatel	Mražené patentky	Otohime (O)	Otohime s vitamíny (OV)	Otohime s platentkami (OP)	Otohime s vitamíny a patentkami (OVP)
Velikost částic (mm)	9-13 rozmixováno	B1: 0,25-0,36 B2: 0,36-0,65 C1: 0,58-0,84 C2: 0,84-1,41 S1: průměr 1,0 S2: průměr 1,4	B1: 0,25-0,36 B2: 0,36-0,65 C1: 0,58-0,84 C2: 0,84-1,41 S1: průměr 1,0 S2: průměr 1,4	B1: 0,25-0,36 B2: 0,36-0,65 C1: 0,58-0,84 C2: 0,84-1,41 S1: průměr 1,0 S2: průměr 1,4	B1: 0,25-0,36 B2: 0,36-0,65 C1: 0,58-0,84 C2: 0,84-1,41 S1: průměr 1,0 S2: průměr 1,4
Bílkoviny (%)	65	55,1-56,9	55,1-56,9	57-59	57-59
Tuk (%)	1	13,3-15	13, 3-15	9-11,5	9-1,5
Uhlohydráty (NFE %)	32	8,9	8,9	18	18
Vláknina (%)	1	2,4-2,9	2,4-2,9	2,1-2,5	2,1-2,5
Popeloviny (%)	0,5	15-16,5	15-16,5	11-12	11-12
Stravitelná energie (MJ.kg ⁻¹)	15,1	18-19,3	18-19,3	17-18,1	17-18,1
Vitamín C (mg.kg ⁻¹)	150	0	10 000	50	10 150
Vitamín A (IU. kg ⁻¹)	0	10 000	10 000	10 000	10 000
Vitamín D3 (IU. kg ⁻¹)	0	2000	27000	2000	27000
Vitamín E (mg.kg ⁻¹)	0	1250	3750	1250	3750

Larvy a juvenilní ryby do 63. dne exogenní výživy byly krmeny v denní krmné dávce at libitum nepřetržitě 24 hodin denně, což umožnil zvolený nepřetržitý 24hodinnový světelný režim. Odchovávané ryby byly od 7:00 do 16:00 krmeny ručně v pravidelných 15–30minutových intervalech a od 16:00 do 7:00 byly ryby krmeny pomocí automatických krmítek Eheim Twin od firmy Eheim ve dvouhodinových intervalech.

Larvy a juvenilní ryby lipana podhorního byly nasazeny a odchovávány na obou pracovištích v podobných podmínkách RAS prostředí: teplota vody 18–20 °C, obsah rozpuštěného kyslíku 86–107 % (oba parametry kvality vody byly měřeny pomocí přenosného oximetru YSI Pro ODO



dvakrát denně v 7:00 a 18:00), pH 6,8–7,2 (měřené přenosným pH metrem od firmy WTW 3310 jedenkrát denně v 8:00), světelný režim 24L:0D s intenzitou světla 450–550 luxů.

Všechny odchované ryby byly po 42. dnu odchovu z jednotlivých nádrží sloveny a přeneseny bez biometrie a počítání do stejného počtu kruhových nádrží napojených na místní RAS o jednotném objemu 380 litrů.

Všechny odchovné žlaby byly každý den třikrát denně odkalovány v 7:00, 13:00 a 16:00 (do 42. dne odchovu) se snahou ze žlabů odstraňovat zbytky krmiva, výkaly a uhynulé ryby. Od 43. dne do konce odchovu byly kruhové nádrže odkalovány jen jednou denně a to v 7:00. Při každém odkalení jednotlivých žlabů byl v každém žlabu zaznamenán počet uhynulých ryb s cílem exaktně vyhodnotit přežití ryb. Snahou odkalování nádrží bylo udržovat ve žlabech vysokou kvalitu vody, její nízké organické zatížení a eliminovat bakteriální onemocnění ryb. Denně se dopouštělo cca 3-5 % nové čerstvé vody do systému. Od 14. dne exogenní výživy byly všechny žlaby jedenkrát za týden krátkodobě ošetřeny 15 minutovou koupelí přípravku Chloramin v dávce 10 mg.l⁻¹ právě také s cílem eliminovat bakteriální infekce u odchovávaných ryb.

Před nasazením nakoupených larev do chovu bylo na obou pracovištích odebráno celkem 200 ks larev, u kterých bylo po totální eutanázii anestezií v přípravu MS 222 provedeno focení jejich délky pomocí mikrolupy SMZ75T od firmy Nikon z Japonska a digitálního fotoaparátu Canon-72. Následně byly pořízené fotografie analyzovány pomocí softwaru Quick PHOTO MICRO 3 a tím byla stanovena celková délka (TL v mm) nasazovaných larev. Po vyfocení larev byly larvy ještě individuálně zváženy laboratorními váhami Kern ABT od firmy Kern&Sohn GmbH z Německa s přesností na 0,1 mg a tím byla stanovena individuální kusová hmotnost larev (W v mg).

Po 63 dnech exogenní výživy na konci tohoto odchovu byly na obou pracovištích juvenilní ryby z každé kruhové nádrže sloveny, celkově zváženy, individuálně spočítány a spočítané deformované ryby se skoliózami, lordózami a zig-zag deformitami. Déle byl odebrán vzorek 50 ryb z každé nádrže, které byly odebrané s cílem u těchto ryb provést biometrické měření (TL v mm a BW v g). Těsně před měřením a vážením odchovaných ryb bylo použito anestetikum MS 222 v dávce 0,8–1 g na 10 litrů vody. Ke měření TL ryb bylo použito klasické měřidlo používané k biometrickému měření ryb s přesností na 1 mm. Ke kontrolnímu vážení hmotnosti odchovaných ryb byly použity digitální váhy Mettler AE 2000 od firmy Mettler Toledo s.r.o. (Česká republika) s přesností vážení na 0,01 g.

Ze zjištěných biometrických údajů na začátku a na konci 63denního odchovu a počtu přeživších a deformovaných ryb byly stanoveny následující produkční a kondiční parametry či ukazatele:

Fultonův kondiční koeficient (FK) = $(W/TL^3) \times 100$, kde W je průměrná hmotnost v gramech a TL je průměrná celková délka odchovaných ryb v centimetrech na začátku a na konci období adaptace,

Specifická rychlost růstu (SGR v %·d⁻¹) = $100t^{-1} \ln (W_2 \times W_1^{-1})$, kde t je počet dní v daném období, W₁ je průměrná hmotnost nasazovaných ryb a W₂ je konečná průměrná hmotnost slovených ryb na konci období,

Přežití ryb (P v %) = $(PPR/PNR) \times 100$, kde PPR je počet přeživších ryb (ks) a PNR je počet nasazených ryb (ks),

Míra výskytu deformit (MVD %) = $(PPDR/PPR) \times 100$, kde PPDR je počet přeživších deformovaných ryb (ks),



Získané výsledky byly matematicko-statisticky zpracované a jsou uvedené jako průměrné hodnoty $\pm$ směrodatná odchylka. Statistické vyhodnocení těchto výsledků bylo provedeno v programu Statistika pomocí jedno-faktorové ANOVY a T-testu. Výsledky mezi skupinami byly porovnány a hodnoceny na hladině významnosti $p < 0,05$.

4.2 Výsledky

Na konci 63denního odchovu larev a juvenilních ryb byl zjištěn pozitivní vliv přídatku vitamínu C, D3 a E a mražených patentek do předkládaného peletovaného krmiva Otohime na zvýšenou míru přežití odchovávaných ryb o 1,8 až 2,6ti násobek oproti kontrole (skupině, která byla krmena jen umělým peletovaným krmivem bez obohacení). Statisticky nejvyššího přežití (až 48,8 %) bylo dosaženo u skupiny juvenilních ryb lipana podhorního, které byly krmeny umělým krmivem obohaceným o vitamíny C, D3 a E a o mražené patentky (OVP). Tento krmný režim byl označen za nejefektivnější způsob, který byl testovaný při řešení tohoto projektu v rámci intenzivního odchovu juvenilních ryb lipana v kontrolovaných podmínkách RAS. Skupiny, kde byly ryby krmeny umělým krmivem obohaceným buď jen o vitamíny C, D3 a E (OV) nebo jen o mražené patentky (OP), dosáhly nižšího přežití (32,7-33,8 %) než výše zmíněná skupina. Naopak vyššího přežití než u kontrolní skupiny ($O = 21\%$), u které bylo sice použito nejvyššího peletované krmivo Otohime, ale i tato skutečnost nezajistila dobré a akceptovatelné přežívání odchovávaných ryb lipana podhorního.

Další pozitivní efekt, který byl způsoben a potvrzen přídatkem vitamínů do peletovaného krmiva, byl snižující se podíl výskytu deformit u odchovaných ryb lipana podhorního. V obou skupinách, kde byly použity přídatky vitamínů (OV a OVP), došlo k výraznému snížení výskytu deformovaných ryb, a to přibližně o polovinu vůči skupině OP, která využívala přídatku mražených patentek, a dokonce až o dvě třetiny oproti skupině O, která přijímala jen neobohacené umělé peletované krmivo. Na jiné faktory jako je specifická rychlost růstu (SGR) a kondice odchovaných ryb v podobě Fultonova koeficientu (FK), tak testované krmné režimy vliv neměly. Obecně ve všech skupinách byla dosažena poměrně vysoká rychlost a dobrá kondice odchovávaných ryb. Tyto parametry odchovu byly podporovány především optimálními podmínkami prostředí a využitím vhodného krmiva při optimalizovaném intenzivním odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (Tab. 2).

Tab. 2. Průměrná počáteční a konečná celková délka a hmotnost larev a juvenilních ryb a jejich míra přežití a výskytu deformit na konci intenzivního odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) RAS podmínkách od 1. do 63. dne exogenní výživy.

Produkční ukazatel	Skupina			
	O	OV	OP	OVP
Počáteční celková délka TL (mm)	14,8 $\pm$ 0,7	14,8 $\pm$ 0,7	14,8 $\pm$ 0,7	14,8 $\pm$ 0,7
Počáteční hmotnost W (g)	0,0195 $\pm$ 0,0017	0,0195 $\pm$ 0,0017	0,0195 $\pm$ 0,0017	0,0195 $\pm$ 0,0017
Počáteční FK	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
Konečná celková délka TL (mm)	80,2 $\pm$ 5,6	84,2 $\pm$ 6,0	83,9 $\pm$ 6,2	88,0 $\pm$ 6,5
Konečná hmotnost W (g)	4,0 $\pm$ 0,94	4,9 $\pm$ 1,18	4,7 $\pm$ 1,20	5,2 $\pm$ 1,9
Konečný FK	0,78 $\pm$ 0,2	0,82 $\pm$ 0,2	0,80 $\pm$ 0,2	0,76 $\pm$ 0,2
SGR (% $\cdot$ d ⁻¹)	8,5 $\pm$ 1,1	8,8 $\pm$ 1,5	8,7 $\pm$ 1,2	8,9 $\pm$ 1,4
Přežití ryb (%)	18,5 $\pm$ 7,8 ^a	32,7 $\pm$ 7,8 ^b	33,8 $\pm$ 9,4 ^b	48,8 $\pm$ 6,2 ^c
Míra výskytu deformit MVD (%)	21,0 $\pm$ 5,5 ^c	9 $\pm$ 3,6 ^a	15 $\pm$ 4,2 ^b	7 $\pm$ 3,6 ^a
Celkový počet kvalitních odchovaných ryb (ks)	1790	3165	3271	4723



Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze tří opakování ($n = 4$). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi skupinami ($P < 0,05$). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

4.3 Závěr

V rámci této části projektu bylo zjištěno, že využití obohaceného peletovaného krmiva Otohime o vitamíny C, D3 a E a o mražené patentky od 63. dne exogenní výživy má významný pozitivní vliv na vyšší míru přežití odchovávaných ryb lipana podhorního odchovávaného v intenzivní akvakultuře využívající RAS. Zmíněný přístup v rámci intenzivního chovu daného druhu může zvýšit přežití až 2,6krát oproti konvenčnímu způsobu krmení a chovu juvenilních ryb využívající peletované krmivo bez jakýchkoliv přísad a obohacení.

Použitá literatura:

- Polícar, T., Křišťan, J., Malinovskij, O., Pěnka, T., Kolářová, J., 2021. Optimalizovaná reprodukce a efektivní chov candáta obecného (*Sander lucioperca*) zajišťující produkci kvalitního násadového materiálu. Edice Metodik (Ověřená technologie), FROV JU Vodňany, 187: 66 s.
- Pěnka, T., Malinovskij, O., Křišťan, J., Imentai, A., Polícar, T., 2021. Effect of density and mixed culture of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) and pikeperch (*Sander lucioperca*) on growth, survival and feed conversion rate in intensive culture. Czech Journal of Animal Science, 66, 2021 (10): 428–440.

5 Optimalizace efektivního intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního od 77. do 140. dne exogenní výživy v kontrolovaných podmínkách RAS pomocí tří testovaných kvalitních peletovaných krmiv

5.1 Materiál a metodika

Po ukončení první části projektu, kdy bylo odchováno 12 949 kvalitních juvenilních ryb lipana podhorního bylo do dalšího chovu nasazeno celkem 12 540 velikostně vyrovnaných ryb ($TL = 85,4 \pm 6,3$ mm a $W = 4,95 \pm 1,1$ g). Tyto ryby byly zase do této části realizovaného projektu nasazeny 65. den exogenní výživy (12.8.2021) do stejných již dříve použitých 12 kruhových odchovných nádrží o objemu 380 litrů (9 nádrží na FROV JU a 3 nádrže na Rybářství Nové Hradky s.r.o.), které byly napojené na místní RAS čítající celkem 9 potažmo 6 kubíků vody a mechanickou a biologickou filtraci, sterilizaci a oxygenaci vody. Ryby byly do jednotlivých nádrží nasazovány ve stejné počáteční hustotě $2,75 \text{ ks.l}^{-1}$, tzn. $13,6 \text{ kg.m}^{-3}$, což představovalo 1045 ryb na jednu nádrž. Díky 12 použitým nádržím byly vytvořeny 3 experimentální skupiny ryb se 4 opakováními (3 opakování na FROV JU a jedno opakování na Rybářství Nové Hradky s.r.o.). Vzniklé tři experimentální skupiny byly od 77. do 140. dne exogenní výživy (od 24.8.2021 do 26.10.2021) krmeny třemi testovanými kvalitními peletovanými krmivy: Otohime S2 - S3 (skupina O), Biomar Inicio Plus 1,5 mm - Biomar Inicio 2 mm (skupina B) a Skretting GEMMA Diamond 1,5 - Skretting Europa 15 F 2mm (skupina S) s cílem tyto krmiva testovat a pomocí tohoto testu alespoň u jedné skupiny dosáhnout vysokého přežití, dobrého



tělesného vývoje bez deformit a vysokého růstu ryb. Nutriční složení všech tří použitých krmiv jsou uvedené v Tab. 3.

Jelikož pro tuto část projektu se používaly juvenilní ryby lipana podhorního, které v předchozí části byly odchované krmivem Otohime, musely být skupiny B a S v průběhu 12 dní od 65. do 76. dne exogenní výživy postupně adaptovány na testované krmné směsi. Po skončení adaptaci skupin B a S na nové testované směsi byl 77. den exogenní výživy zahájen nový experiment, který v kontrolovaných podmínkách testoval a porovnával efektivitu intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního. Juvenilní ryby byly krmeny jednotnou denní krmnou dávkou 5 (na konci odchovu) -10 % (na začátku odchovu) z biomasy ryb v průběhu 24hodinového světelného režimu podobným způsobem jako tomu bylo v první části tohoto projektu.

Tab. 3. Nutriční složení krmiv použitých při intenzivním odchovu juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) podmínkách RAS od 77. do 140. dne exogenní výživy.

Ukazatel	Otohime S2 S3	Biomar Inicio Plus 1,5 Inicio Plus 2	Skretting GEMMA Diamond Europa 15 F
Velikost částic (mm)	1,4-2	1,5-2	1,5-2
Bílkoviny (%)	56,9	52-54	55
Tuk (%)	13,3	21-24	16
Uhlohydráty (NFE %)	18	7,2-13,0	10
Vláknina (%)	2,4	0,4-1,0	0,7
Popeloviny (%)	16,5	7,6-11,0	10
Stravitelná energie (MJ.kg ⁻¹)	18,1	20,0-20,7	19,4

Ryby na obou pracovištích byly chované v podobných optimálních podmínkách prostředí: teplota vody 19-20 °C; pH = 6,9 ± 0,3; nasycení kyslíkem 97,9 ± 7,5 % se světelným režimem 24L/OD a světelnou intenzitou 450 luxů. Zmíněná kvalita vody byla měřena stejným způsobem jako v první fázi realizace tohoto projektu.

Výše popsany odchov trval celkově 63 dní od 24.8. 2021 do 26.10. 2021 a byl rozdělen na tři dílčí období (u každého délka 21 dní) s cílem aktualizovat vždy v každé nádrži biomasu ryb a denní krmnou dávku. V průběhu odchovu byly podobně jako v první fázi tohoto projektu všechny odchovné nádrže odkalovány a zaznamenávány detailně všechny uhynulé ryby případně množství nespotřebovaného krmiva s cílem následně vyhodnotit přežití odchovávaných ryb a koeficient konverze krmiva (FCR). Denně se dopouštělo cca 3-5 % nové čerstvé vody do systému.

Na začátku této aktivity projektu bylo na každém pracovišti provedeno biometrické šetření u reprezentativního vzorku 270 ks potažmo 90 ks experimentálních ryb (30 ks z každé nádrže na FROV JU a na Rybářství Nové Hradky s.r.o.). Stejně množství ryb bylo biometricky změřeno také na konci celého tohoto odchovu. Obě biometrická šetření byla realizována stejným způsobem a byla využita na kalkulaci a vyhodnocení stejných produkčních parametrů: Fultonův kondiční koeficient (FK), Specifická rychlost růstu (SGR v %.d⁻¹), Přežití ryb (P v %) a Míra výskytu deformit (MVD v %). Vedle těchto parametrů byl z denní krmné dávky, množství



nespotřebovaného krmiva a přírůstku biomasy ryb také spočítán a stanoven Koeficient konverze krmiva (FCR v kg.kg^{-1}) na konci celého období odchovu podle vzorečku:

Koeficient konverze krmiva ($\text{FCR} = \text{Feed Conversion Ratio v } \text{kg.kg}^{-1}$) = $\text{CKD} / (\text{KB} - \text{PB})$, kde CKD je celková krmná dávka za období odchovu (kg), tzn. množství předloženého krmiva, KB je konečná celková biomasa ryb v nádrži (kg) a PB je počáteční biomasa ryb v nádrži (kg).

Získané výsledky u všech tří skupin byly matematicko-statisticky zpracovány a jsou uvedeny jako průměrné měřené hodnoty $\pm$ směrodatné odchylky měřených hodnot. Statistické vyhodnocení těchto výsledků bylo provedeno v programu Statistika pomocí jedno–faktorové ANOVY a T-testu. Výsledky mezi skupinami byly porovnány a hodnoceny na hladině významnosti $p < 0,05$.

5.2 Výsledky

Nejvyšší přežití odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního v intenzivním chovu bylo dosaženo u skupiny O, která byla krmena krmivem Otohime ($89,5 \pm 5,5 \%$). Ryby skupiny S (krmené krmivem Skretting) vykázaly nižší přežití ($86,5 \pm 3,5 \%$), které však bylo statisticky stejné jako u skupiny O. Obecně je možné konstatovat, že tyto dvě zmíněné skupiny vykázaly poměrně vysokou míru přežití a díky tomu i vysokou efektivitu chovu. Naopak skupina B, kde byly juvenilní ryby lipana podhorního krmeny krmivem Biomar, vykázaly statisticky nižší přežití pouze na úrovni $77,5 \pm 5,0 \%$. Podobné výsledky byly zjištěny i u růstu odchovávaných ryb, kdy ryby odchovávané ve skupinách O a S dosahovaly vyššího růstu ($\text{SGR} = 2,6\text{--}2,7 \text{ \%} \cdot \text{d}^{-1}$) a tím i průměrné kusové velikosti odchovávaných ryb ($\text{TL} = 124,3\text{--}135,7 \text{ mm}$) a hmotnosti ($W = 25,2\text{--}27,5 \text{ g}$) oproti rybám skupiny B, které dosáhly statisticky nižších hodnot SGR ($1,8 \pm 0,2 \text{ \%} \cdot \text{d}^{-1}$), TL ($112,1 \pm 18,2 \%$) a W ($15,1 \pm 1,5 \text{ g}$). Stejný trend výsledků byl zjištěn i u konverze živin z předkládaných krmiv, kdy FCR bylo nejnižší, a tedy konverze živiny nejvyšší u juvenilních ryb skupin O a S ($\text{FCR} = 1,5\text{--}1,7 \text{ kg.kg}^{-1}$) oproti rybám skupiny B ($\text{FCR} = 2,3 \text{ kg.kg}^{-1}$) (Tab. 4).

U juvenilních ryb krmených krmivy od firmy Skretting nebyly zjištěny žádné deformity. Naopak u ryb krmených krmivem Otohime a Biomar byly zjištěny tělesné deformity (hlavně skoliózy a lordózy) u $1,5\text{--}3 \%$ ryb (Tab. 4). V případě krmiva Otohime jsou tělesné deformity pravděpodobně způsobené absencí vitamínu C v daném krmivu, které je primárně používáno pro produkci larev a juvenilních mořských druhů ryb, jelikož v této části projektu krmiva již obohacována o vitamíny nebyla. Celkově bylo v rámci této části projektu odchováno 10 442 ks juvenilních ryb (Tab. 4), které se následně používaly v dalších částech realizace projektu nebo byly drženy jako rezerva pro budoucí činnosti tohoto projektu s cílem maximálně naplnit plánované činnosti a aktivity řešeného projektu.

Z výše uvedených výsledků a z hlediska přežití, růstu, konverze živin a kondice různě krmených odchovávaných juvenilních ryb lipana můžeme jednoznačně produkční praxi doporučit v rámci juvenilního intenzivního chovu používat peletovaná krmiva GEMMA Diamond a Europa 15 F od firmy Skretting. Tato krmiva totiž zajišťují podobné přežití, růst a konverzi živin jako krmiva Otohime. Avšak jejich nákupní cena se pohybuje na významně nižších hodnotách ($85\text{--}125 \text{ Kč.kg}^{-1}$ bez DPH) oproti ceně krmiv Othomie S2 a S3 (365 Kč.kg^{-1} bez DPH). Tímto krokem může být významně podpořena finanční rentabilita intenzivního chovu a produkce juvenilních ryb lipana podhorního v praxi.



Tab. 4. Průměrná počáteční a konečná celková délka a hmotnost juvenilních ryb a jejich kondiční stav, míra přežití, růstu, konverze živin a výskytu deformit na konci intenzivního odchovu juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) RAS podmínkách od 77. do 140. dne exogenní výživy.

Produkční ukazatel	Otohime	Biomar	Skretting
Počáteční celková délka TL (mm)	85,4 ± 6,3	85,4 ± 6,3	85,4 ± 6,3
Počáteční hmotnost W (g)	4,95 ± 1,1	4,95 ± 1,1	4,95 ± 1,1
Počáteční FK	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05
Konečná celková délka TL (mm)	135,7 ± 24,7^b	112,1 ± 18,2^a	124,3 ± 22,1^b
Konečná hmotnost W (g)	27,5 ± 2,1^b	15,1 ± 1,5^a	25,2 ± 2,3^b
Konečný FK	1,10 ± 0,1	1,07 ± 0,05	1,31 ± 0,1
SGR (%.d ⁻¹)	2,7 ± 0,2^b	1,8 ± 0,2^a	2,6 ± 0,2^b
Přežití ryb (%)	89,5 ± 5,5^b	77,5 ± 5,0^a	86,5 ± 3,5^b
FCR (kg.kg ⁻¹)	1,5 ± 0,1^a	2,3 ± 0,1^b	1,7 ± 0,1^a
Míra výskytu deformit MVD (%)	1,5 ± 0,5	3 ± 0,5	0 ± 0
Celkový počet kvalitních odchovaných ryb (ks)	3685	3142	3615

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 4). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

5.3 Závěr

V průběhu 63denního intenzivního odchovu juvenilních ryb lipana podhorního v RAS podmínkách o kusové velikosti: TL = od 85 mm do 112,1-135,7 mm a hmotnosti W = od 4,95gramů do 15,1–27,5 gramů bylo dosaženo vysokého přežití ryb na úrovni 86,5–89,5 %, vysoké rychlosti růstu (SGR = 2,6–2,7 %.d⁻¹), dobré konverze krmiva (FCR = 1,5–2,3 kg.kg⁻¹) a minimální míry tělesných deformit u juvenilních ryb krmených krmivem Otohime a Skretting. Obecně lze konstatovat, že intenzivní chov juvenilních ryb lipana podhorního v daných velikostech lze realizovat poměrně úspěšně bez větších technologických překážek, s poměrně zajímavou ekonomickou rentabilitou v případě, že jsou využívána levnější peletovaná umělá krmiva od firmy Skretting.



6 Vylepšená a optimalizovaná umělá výživa juvenilních ryb lipana podhorního odchovávaných v intenzivním chovu RAS pomocí nutričně vybalancovaného experimentálního krmiva z hlediska obsahu bílkovin a tuků

6.1 Materiál a metodika

Po výše popsané a vyhodnocené aktivitě (kapitola 5 této zprávy) došlo na obou pracovištích k vyčištění a údržbě používaných RAS. Do podniku Rybářství Nové Hrady s.r.o. byly soustředěny všechny rezervní juvenilní ryby lipana podhorního, které zde byly dále odchovány pro případ potřeby realizovaného projektu.

Vedle výše zmíněné aktivity, byly na FROV JU a v podniku Rybářství Nové Hrady s.r.o. 143. den exogenní výživy (29.10.2021) nasazeny experimentální ryby do osmnácti (FROV JU) a šesti (Rybářství Nové Hrady) již používaných kruhových nádrží o objemu 380 litrů napojených na místní RAS. Do každé nádrže bylo nasazeno celkem 100 ks juvenilních ryb lipana podhorního ($TL = 127,2 \pm 27,6$ mm a $W = 25,2 \pm 0,3$ g) o celkovém množství 2400 kusů ryb, které byly řádně před nasazením do nádrží roztríděny a vybrány. Experimentální ryby pro tuto část projektu pocházely z předchozí části projektu, a to konkrétně pouze ze skupiny S, kdy tyto ryby byly krmené krmivem Skretting Europa 15 F s velikostí pelet 2 mm.

Díky tomuto nasazení experimentálních ryb do odchovných nádrží bylo vytvořeno šest skupin ryb se čtyřmi opakováními. Tyto podmínky sloužili k zahájení následujícího experimentu, který od 146. dne exogenní výživy (od 1.11. 2021) po dobu 84 dní do 230. dne exogenní výživy (do 24.1.2022) testoval celkem šest připravených experimentálních krmiv s různým obsahem bílkovin (30, 40 a 50 %) a tuků (10 a 20 %) s poměrem bílkovin ke stravitelné energii v rozmezí od 13,6 do 24 g.MJ⁻¹ (viz Tab. 5). Celkem šest zmíněných experimentálních krmiv bylo připraveno ve vlastní režii FROV JU v rámci spolupráce Laboratoře intenzivní akvakultury a Laboratoře výživy a následně testováno v rámci tohoto experimentu ve zmíněných šesti experimentálních skupinách ryb označených jako: B30T10, B30T20, B40T10, B40T20, B50T10 a B50T20.

Jako zdroj bílkovin pro testovaná krmiva byla použita rybí moučka a sójový proteinový koncentrát. Dále jako zdroj tuků pro testovaná krmiva byla použita směs rybího a sójového oleje. Všechny suché složky krmných ingrediencí na přípravu krmiv byly jemně rozemlety na prášek a propasírovány přes síto s velikostí ok 250 µm. Po přidání zbylých ingrediencí (rybího oleje, sójového oleje, lecitinu a vody) bylo po důkladném promíchání vyrobeno těsto. Posléze ze získaného těsta byly s pomocí laboratorního peletovacího přístroje vytvořeny pelety o průměru 2-3 mm. Následně byly pelety přes noc sušeny ve větrané sušárně při teplotě 35 °C. Usušené pelety byly potom uzavřeny do polyetylenových sáčků a až do použití uskladněny v mrazáku při stálé teplotě -20 °C.

Experimentální ryby ve všech skupinách na obou pracovištích byly chovány ve stejných podmínkách prostředí intenzivní akvakultury využívající RAS technologii, která byla popsána již v předchozích kapitolách této zprávy. Odchovné nádrže byly jedenkrát denně v 7:00 odkalovány s cílem udržovat vysokou kvalitu vody v nádržích a RAS. Denně se dopouštělo cca 3-5 % nové čerstvé vody do systému. Parametry kvality vody zahrnující teplotu vody: $16,5 \pm 0,3$ °C; pH: $7,05 \pm 0,2$; koncentraci rozpuštěného kyslíku: $107 \pm 5,2$ %, byly v průběhu experimentu zaznamenávaly jednou denně (v 8:00) stejným způsobem uvedeným v předchozích kapitolách



této zprávy. Denní světelný režim při tomto experimentálním odchovu byl udržován na úrovni 12hodin světlo a 12hodin tmy.

Vedle zmíněných parametrů kvality vody byla ještě v této části projektu zjišťována koncentrace celkového amoniaku ($\text{TAN} = 0,45 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) pomocí jednoduché titrační a kolorimetrické příruční sady využívající Nesslerovo činidlo a Seignetovu sůl a dusitanů ($\text{NO}_2^- = 0,44 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) pomocí příruční titrační a kolorimetrické sady využívající kyselinu sulfanilovou ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$) a roztok NED (N-1-Naftyl Etylendiamin Dihydrochlorid). Pomocí těchto sad došlo ke stanovení orientační koncentrace amoniakálního dusíku ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) v mg.l^{-1} a dusitanového dusíku ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) v mg.l^{-1} . Následně se koncentrace obou parametrů přepočítala pomocí koeficientů na koncentraci celkového amoniaku a dusitanů podle Policara a kol. (2018). Obě zmíněné sady na stanovení koncentrace amonného a dusitanového dusíku byly získány na FROV JU v Laboratoři vodní toxikologie a ichtyopatologie. Určitou nevýhodou použití příruční sady pro stanovení TAN byla skutečnost, že sada obsahuje Nesslerovo činidlo, tj. chemikálii, se kterou může pracovat pouze osoba odborně způsobilá podle Zákona č. 356/2003 Sb., o chemických látkách a přípravcích. Nesslerovo činidlo totiž obsahuje rtuť, tzn., že je velmi toxické a nebezpečné pro životní prostředí. Likvidace roztoků po stanovení amoniakálního dusíku muselo být, proto provedeno odborně specializovanou firmou, aby nedocházelo k zatížení životního prostředí.

Experimentální ryby ve všech skupinách a nádržích byly krmeny testovanými krmivy do sytosti dvakrát denně v 8:30 a v 13:30 po dobu 12 týdnů (84 dní). Veškeré nespotřebované krmivo v jednotlivých nádržích (pokud nějaké zůstalo) bylo 30 minut po nakrmení ryb vždy odsáto, odebráno, vysušeno a zváženo. Údaj o nespotřebovaném krmivu byl použit pro pozdější výpočet celkového množství zkrmeného krmiva z jednotlivých nádržích, který následně posloužil pro výpočet efektivity krmiva (FE).

Tab. 5. Surovinové a nutriční složení testovaných krmiv (v % v suchém stavu).

Ingredience/ Skupina	B30T10	B30T20	B40T10	B40T20	B50T10	B50T20
Rybí moučka ^a	32,0	32,0	46,0	46,0	60,0	60,0
SPK ^b	4,00	6,00	8,00	10,0	12,0	14,0
Pšeničná mouka	46,85	34,85	29,85	17,85	12,85	0,85
Kvasnice	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Dextrin	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Rybí olej	3,60	10,0	3,00	9,40	2,40	8,80
Sójový olej	2,00	5,60	1,60	5,20	1,20	4,80
Lecitin	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Stay-C ^c	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Minerální premix ^d	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitaminový premix ^e	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cholinchlorid	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Karboxymethylcelulóza	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Nutriční složení						
Sušina	91,0	90,9	89,9	91,7	89,1	90,0
Proteinů	29,8	30,3	40,0	40,3	49,2	49,7
Lipidy	9,90	19,0	9,70	19,3	10,1	19,5
Ash	3,65	3,60	5,00	4,99	6,42	6,38
GE ^f	20,2	22,3	20,4	22,4	20,5	22,5
B/E poměr ^g	14,8	13,6	19,6	18,0	24,0	22,1

Vysvětlivky: ^aRybí moučka Super Prime (bílkoviny: 67,9%, tuky: 9%).



^bSójový proteinový koncentrát (bílkoviny: 62%, tuky: 0,5%).

^cDerivát vitamínu C

^dMineralní premix (mg nebo g.kg⁻¹ krmiva): NaF, 2 mg; KI, 0,8 mg; CoCl₂·6H₂O (1%), 50 mg; CuSO₄·5H₂O, 10 mg; FeSO₄·H₂O, 80 mg; ZnSO₄·H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 25 mg; MgSO₄·7H₂O, 200 mg; zoelit, 4,582 g.

^eVitaminový premix (mg nebo g kg⁻¹ diety): thiamin, 10 mg; riboflavin, 8 mg; pyridoxin HCl, 10 mg; vitamin B12, 0,2 mg, vitamin K3, 10 mg; inositol, 100 mg; pantothenová kyselina, 20 mg; niacinová kyselina, 50 mg; foliová kyselina, 2 mg; biotin, 2 mg; retinol acetát, 400 mg; cholekalciferol, 5 mg; alfa-tokoferol, 100 mg; ethoxyquin, 150 mg; pšenice středního zrna, 1,1328 g.

^fVypočítaná hrubá energie (GE) (MJ.kg⁻¹) = založená na základě hodnot spalování 23,6 MJ.kg⁻¹ pro bílkoviny, 39,5 MJ.kg⁻¹ pro tuky lipidy a 17,2 MJ.kg⁻¹ pro cukry.

^gB/E poměr (g.MJ⁻¹) = Poměr bílkovin a energie.

Na konci krmného experimentu byly v jednotlivých nádržích a skupinách spočítány všechny živé odchované ryby a zvážena jejich biomasa. V každé nádrži bylo 30 ks ryb znehybněno anestetikem (MS 222 0,8 g.l⁻¹) a změřeno (TL) a zváženo (W) stejným způsobem jako v předchozích realizovaných experimentech tohoto projektu. Zjištěné hodnoty složily ke stanovení míry přežití, růstu a kondice odchovávaných ryb (Fultonova kondičního koeficient – FK).

Přežití: Přežití (%) = (Počet přeživších ryb/ počet nasazených ryb)/100 (%)

K: Fultonův kondiční koeficient = tělesná hmotnost (BW) × 100 / (celková délka (TL))³.

FBW: Konečná tělesná hmotnost (g).

WG: Přírůstek hmotnosti (%) = [(konečná tělesná hmotnost – počáteční tělesná hmotnost) / počáteční tělesná hmotnost × 100].

SGR: Specifická míra růstu (%.d⁻¹) = [ln konečná tělesná hmotnost – ln počáteční tělesná hmotnost) / dny] × 100.

FI: Příjem krmiva (g. ryba⁻¹) = množství spotřebovaného krmiva (g) jednou rybou.

FE: Efektivita krmiva = přírůstek biomasy ryb / zkrmené suché krmivo.

PER: Poměr účinnosti proteinů = přírůstek biomasy ryb / celková spotřeba bílkovin

Na konci experimentu bylo dále pět náhodně vybraných ryb z každé nádrže odchyceno, humánně usmrceno za použití anestetika MS222 (2g.l⁻¹) a uloženo do mrazáku s teplotou -20 °C pro pozdější celkovou živinovou analýzu celého těla odchovaných ryb. Od těchto pěti ryb z každé nádrže byly rovněž před uložením do -20 °C odebrány vzorky hřbetní svaloviny ke stanovení detailnějšího celkového živinového složení svaloviny a současně i složení mastných kyselin ve hřbetní svalovině.

Krev byla odebrána s 3ml injekčními stříkačkami z ocasní žíly u šesti dalších náhodně vybraných ryb z každé nádrže po anestezii (MSS v koncentraci 0,8 g.l⁻¹). Vzorky s krví byly převedeny do 2ml mikrozkupek (typ Eppendorf) a ponechány po dobu 24 hodin v lednici s cílem se vysrážet při teplotě 4 °C. Poté byly vzorky se sraženou krví odstředěny silou 5000 xg po dobu 10 minut při teplotě 4 °C. Po odstředění krve byla z každého vzorku sesbírán vzorek krevní plasmy, který byl uložen do mrazáku při teplotě -80 °C pro stanovení biochemických, antioxidačních a imunitních parametrů krve.



Následně tyto ryby byly humánně usmrceny za použití anestetika MS222 (2g.l^{-1}) a následně vypitvány pro stanovení: viscerosomatického indexu (VSI), hepatosomatického indexu (HSI) a intraperitoneálního tukového poměru (IPT).

VSI: Viscerosomatický index = $\text{hmotnost viscerálního tuku} \times 100 / \text{tělesná hmotnost (BW)}$.

HSI: Hepatosomatický index = $\text{hmotnost jater} \times 100 / \text{tělesná hmotnost (BW)}$.

IPT: Intraperitoneální tukový poměr = $\text{hmotnost intraperitoneálního tuku} \times 100 / \text{tělesná hmotnost (BW)}$.

Všechny ryby byly vždy před jakoukoliv manipulací a odběrem 24 hodin nekrmeny, a tím byly vylučněny, aby se u nich snížil jejich stres.

6.1.1 Analýzy složení celého těla a hřbetní svaloviny odchovaných juvenilních ryb

Celkový obsah bílkovin ve vzorcích celých těl či hřbetní svaloviny byly stanoveny pomocí Kjeldahlovy metody, která je popsána v publikaci AOAC (2002). Celkový obsah tuků byl stanoven podle metody Folcha a kol. (1957). Popeloviny byly stanoveny žiháním vzorků při teplotě $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, podle publikace AOAC (2002). Obsah vlhkosti byl získán sušením při teplotě $110\text{ }^{\circ}\text{C}$, podle stejné publikace AOAC (2002). Metylestery mastných kyselin tuků byly získány transmethylovací podle Christie (1989) a následně byly separovány pomocí plynové kapalinové chromatografie podle Izquierdo a kol. (1990).

6.1.2 Krevní biochemické, antioxidační a imunitní analýzy

Byly stanoveny následující biochemické parametry v krevní plasmě odchovaných juvenilních ryb lipana podhorního: celkový obsah proteinů (TP), koncentrace triglyceridů (TG), celkového cholesterolu (CHO), glukózy (GLU), alaninaminotransferázy (ALT), aspartátaminotransferázy (AST), alkalické fosfatázy (ALP) a laktátdehydrogenázy (LDH). Tyto parametry byly měřeny pomocí analyzátoru VET-TEST 8008 (IDEXX Laboratories Inc., Maine, USA).

Aktivita antioxidační superoxiddismutázy (SOD) byla stanovena pomocí soupravy SOD Assay Kit (Sigma, 19160). Pro měření aktivity katalázy (CAT) a koncentrace malondialdehydu (MDA) byly použity komerční testovací kity od firmy ThermoFisher Scientific (CA, USA) a Sigma-Aldrich (USA).

Pro stanovení aktivity lysozymu byla použita upravená turbidimetrická metoda podle Swaina a kol. (2007). Celkem $20\text{ }\mu\text{l}$ krevního séra bylo umístěno do 96jamkových destiček s plochým dnem. Poté bylo do každé jamky přidáno $180\text{ }\mu\text{l}$ suspenze *Micrococcus lysodeikticus* ($0,2\text{ mg.ml}^{-1}$, od firmy Sigma-Aldrich, USA) rozpuštěné ve 40 mM fosforečnanu sodném ($\text{pH } 6,2$) sloužící jako substrát pro lysozym. Každý vzorek byl analyzován přidáním $20\text{ }\mu\text{l}$ krevní plazmy do $180\text{ }\mu\text{l}$ pufru fosforečnanu sodného. Hodnoty byly měřeny absorpčně při vlnové délce 450 nm po 20 minutách při teplotě $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ na mikrodestičkové čtečce Bio-Rad 550.

Aktivita myeloperoxidázy (MPO) byla stanovena podle Quadeho a Rotha (1997). Celkem $20\text{ }\mu\text{l}$ krevní plazmy bylo zředěno HBSS (Hanks Balanced Salt Solution, Sigma-Aldrich, USA) bez iontů Ca^{2+} nebo Mg^{2+} a aplikováno na 96jamkovou destičku. Poté bylo přidáno $35\text{ }\mu\text{l}$ 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin hydrochloridu (TMB, 20 mM) a H_2O_2 (5 mM) (Sigma-Aldrich, USA). Reakce změny barvy byla po 2 minutách zastavena přidáním $35\text{ }\mu\text{l}$ 4 M kyseliny sírové. Nakonec byla na mikrodestičkové čtečce Bio-Rad 550 stanovena optická hustota vzorků při vlnové délce 450 nm .

Antiproteázová aktivita v krevní plazmě byla kvantifikována s úpravami metody stanovené Ellis a kol. (1990) a Magnadóttir a kol., 1999. Celkem $20\text{ }\mu\text{l}$ krevní plazmy bylo inkubováno



s 20 µl standardního roztoku trypsinu (typ II-S, z prasečí slinivky, 5 mg.ml⁻¹, Sigma-Aldrich, USA) po dobu 10 minut při teplotě 22 °C. Poté bylo přidáno 200 µl fosfátového pufru (0,1 M, pH 7,0) a 250 µl azokaseinu (2 %) (Sigma-Aldrich, USA) a inkubováno po dobu 1 hodiny při teplotě 22 °C. Poté bylo přidáno 500 µl kyseliny trichloroctové (10 %) a inkubováno 30 minut při teplotě 22 °C. Následně byla směs odstředěna odstředivou silou 6000 ×g po dobu 5 minut. Následně, po přidání 100 µl supernatantu byla umístěna získaná směs do jamek 96jamkové mikrodostičky s plochým dnem obsahující 100 µl 1 N NaOH. Koncentrace výsledné směsi vzorků byla hodnocena při vlnové délce 430 nm. U pozitivní kontroly nahradil pufr krevní plazmu a u negativní kontroly nahradil pufr krevní plazmu i trypsin. Pro stanovení inhibice trypsinu byla použita následující rovnice:

$$\text{Inhibice trypsinu (\%)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

Vysvětlivky: A1 – kontrolní trypsinová aktivita (bez krevní plazmy); A2 – trypsinová aktivita, která zůstala po přidání krevní plazmy.

6.1.3 Koncentrace amoniaku v krevní plazmě odchovaných ryb a vylučování amoniaku do vody odchovanými rybami

Pro vyhodnocení vlivu testovaných krmiv na koncentraci amoniaku v krevní plazmě odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního byla po 5 hodinách od posledního krmení odebrána krev třem rybám z ocasní žíly z každé odchovné nádrže (celkem 12 ryb v každé skupině) pomocí heparinovaných stříkaček. Poté byla krevní plazma odstředěna odstředivou silou 5000 ×g po dobu 10 minut při 4 °C a uchovávána při teplotě -80 °C na pozdější analýzy. Koncentrace amoniaku v krevní plazmě byla stanovena analyzátozem VET-TEST 8008 s použitím komerční kytů.

Pro posouzení vlivu testovaných krmiv na vylučování amoniaku rybami bylo z každé nádrže náhodně odchyceno 5 ryb, které byly přemístěny do osmnácti skleněných akvárií o objemu 40 l. Ryby se dva dny adaptovaly na nový systém a byly krmeny stejnými testovacími krmivy, jako v průběhu experimentu, až do zjevného nasycení. Po každém krmení bylo zbylé krmivo odstraněno a polovina vody byla vyměněna. Třetí den ihned po krmení bylo odebráno nespotřebované krmivo a výkaly. V tomto okamžiku se průtok vody akváriem zastavil a po 5 a 24 hodinách byla pomocí multimetru HANNA Instruments Inc., (RI, USA) změřena koncentrace amoniakálního dusíku (NH₄⁺-N). Pro výpočet koncentrace vylučovaného amoniaku byla použita následující rovnice podle Rahimnejad a Lee (2013):

$$\text{Koncentrace vylučovaného amoniaku} = \frac{\Delta N - \text{NH}_4^+ \times v}{m \times t}$$

Vysvětlivky: ΔN-NH₄⁺ – změna koncentrace amoniaku během každého testovacího období; v – objem vody (l); m – biomasa ryb (kg) a t – testovaný časový interval (hodiny).

Teplota vody, pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku byly měřeny na obou odběrových místech a byly sledovány od posledního krmení do 5 hodin: 16,4 ± 0,05 °C; 7,03 ± 0,01 a 8,02 ± 0,12 mg l⁻¹) a do 24 hodin pop posledním nakrmením: 16,5 ± 0,08 °C; 7,41 ± 0,03 a 8,82 ± 0,04 mg l⁻¹.

Všechny údaje a hodnoty v rámci tohoto experimentu jsou uvedeny jako průměry se směrodatnými odchylkami. Sledované parametry byly analyzovány pomocí jednocestné a dvoucestné analýzy rozptylu (One-way, Two-way ANOVA) pro stanovení významných statistických rozdílů sledovaných hodnot u bílkovin, tuků a jejich vzájemných interakcí. Pokud



funkce ANOVA identifikovala rozdíl mezi skupinami, tak následně byl použit Tukeyho HSD test pro posouzení detailnějšího rozdílu mezi skupinami. Statistická významnost byla stanovena na hladině $P < 0,05$. Všechny statistické analýzy byly provedeny za pomoci analytického programu Statistica ve verzi 13.5.0.17 (TIBCO Inc., CA, USA).

6.2 Výsledky

Na konci experimentu díky poměrně rozsáhlým získaným výsledkům byl stanoven jasný vliv experimentálních krmiv (obsahu bílkovin a tuků) na růst, přežití, kondici, produkci, složení těla a hřbetní svaloviny, biochemické, antioxidační a vrozené imunitní parametry, koncentrace amoniaku v krevní plazmě a sekreci amoniaku rybami do vody u juvenilního lipana podhorního od počáteční velikosti $TL = 127,2 \pm 27,6$ mm a $W = 25,2 \pm 0,3$ g ryb do konečné velikosti ryb ($TL = 205,2 \pm 27,6$ mm a $W = 87,2 \pm 13,6$ g).

Z výsledků plyne, že růst odchovávaných ryb (FBW, WG a SGR) lipana byl ovlivněn pouze obsah bílkovin v testovaných experimentálních krmivech ($P < 0,05$), zatímco obsah tuku nebo interakce bílkovin a tuků v krmivech neměly žádný vliv na růst u juvenilních lipanů. Konkrétně se ukázalo, že s rostoucím obsahem bílkovin v krmivech od 30 do 40 % se růstová rychlost výrazně zvýšila. Ovšem následující vyšší obsah bílkovin (50 %) v použitých krmivech nemělo další pozitivní akceleraci růstu (Tab. 6).

Na druhé straně se s rostoucím obsahem bílkovin a tuků v testovaných krmivech snižoval příjem krmiva rybami (FI) a současně se zvyšovala (vylepšovala) účinnost krmiva (FE). Nejvyšší poměr účinnosti bílkovin (PER) byl zjištěn při 30 % obsahu bílkovin v testovaných krmivech. Dále zvyšující se obsah tuků v krmivech vedl k výraznému zvýšení PER (Tab. 6).

Obsah testovaných krmiv neměl vliv na míru přežití odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního, které se na konci experimentu pohybovalo na vysoké a vyrovnané úrovni v rozmezí 98 až 100 % (Tab. 6).



Tab. 6. Růst, přírůstek biomasy, příjem krmiva, využití krmiva a míra přežití juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními krmivy po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	FBW (g)	WG (%)	SGR (%.d ⁻¹)	FI (g.ks ⁻¹)	FE (g.g ⁻¹)	PER	Přežití (%)
Průměry jednotlivých skupin									
B30T10	30	10	82,9	225	1,40	80,1	0,70	2,36	99,3
B40T10	40	10	85,6	243	1,47	69,9	0,85	2,13	98,0
B50T10	50	10	89,2	257	1,52	63,8	0,99	2,02	99,3
B30T20	30	20	82,5	232	1,43	69,1	0,82	2,72	98,7
B40T20	40	20	89,4	257	1,51	64,0	1,02	2,52	100
B50T20	50	20	92,5	266	1,54	59,7	1,15	2,31	100
SEM			1,08	4,17	0,01	1,71	0,04	0,06	0,40
Průměry testovaných faktorů									
	30		82,7 ^b	229 ^a	1,42 ^a	74,6 ^c	0,76 ^a	2,54 ^b	99,0
	40		87,5 ^a	250 ^b	1,49 ^b	66,9 ^b	0,93 ^b	2,32 ^a	99,0
	50		90,8 ^a	262 ^b	1,53 ^b	61,7 ^a	1,07 ^c	2,17 ^a	99,7
		10	85,9	242	1,46	71,3 ^B	0,85 ^A	2,17 ^A	98,9
		20	88,1	252	1,50	64,2 ^A	0,99 ^B	2,52 ^B	99,6
Dvoucestná analýza rozptylu (P - hodnoty)									
Bílkoviny			0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,81
Tuky			0,15	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00	0,40
Interakce			0,46	0,87	0,87	0,21	0,69	0,77	0,61

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 40). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

FBW: konečná tělesná hmotnost (g).

WG: Přírůstek hmotnosti (%) = [(konečná tělesná hmotnost – počáteční tělesná hmotnost) / počáteční tělesná hmotnost × 100].

SGR: Specifická míra růstu (%) = [ln konečná tělesná hmotnost – ln počáteční tělesná hmotnost) / dny] × 100.

FI: Příjem krmiva (g. ryba⁻¹) = množství spotřebovaného krmiva (g) jednou rybou.

FE: Účinnost krmiva = přírůstek biomasy ryb / zkrmené suché krmivo.

PER: Poměr účinnosti proteinů = přírůstek biomasy ryb / celková spotřeba bílkovin



U hodnocené kondice odchovaných ryb na konci odchovu bylo zjištěno, že Fultonův kondiční koeficient (FK) a hepato-somatický index (HSI) nebyly ovlivněny testovanými hladinami bílkovin a tuků v experimentálních krmivech. Naopak viscerální intraperitoneální podíl tuku (VSI a IPF) se zvýšil s rostoucím obsahem tuků v testovaných krmivech (Tab. 7). Obecně tedy odchovávané juvenilní ryby krmené krmivem s vyšším obsahem tuků začaly tučnět.

Tab. 7. Tělesné a organo-somatické parametry juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními krmivy po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	FK	HSI	VSI	IPF
Průměry jednotlivých skupin						
B30T10	30	10	1,07	0,84	10,7	2,42
B40T10	40	10	1,03	0,81	10,2	2,41
B50T10	50	10	1,04	0,78	9,65	2,07
B30T20	30	20	1,03	0,87	11,8	3,07
B40T20	40	20	1,04	0,81	11,4	3,68
B50T20	50	20	1,10	0,82	11,7	3,86
SEM			0,01	0,02	0,22	0,19
Průměry testovaných faktorů						
	30		1,05	0,85	11,3	2,75
	40		1,03	0,81	10,8	3,05
	50		1,06	0,80	10,7	2,96
		10	1,04	0,81	10,1^A	2,30^A
		20	1,05	0,83	11,6^B	3,54^B
Dvoucestná analýza rozptylu (P - hodnoty)						
Bílkoviny			0,58	0,51	0,23	0,58
Tuky			0,83	0,53	0,00	0,00
Interakce			0,00	0,95	0,30	0,20

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 40). Rozdílná písmena označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

K: Fultonův kondiční koeficient = tělesná hmotnost (BW) × 100 / (celková délka (TL))³.

HSI: Hepatosomatický index = hmotnost jater × 100 / tělesná hmotnost (BW).

VSI: Viscerosomatický index = hmotnost viscerálního tuku × 100 / tělesná hmotnost (BW).

IPT: Intraperitoneální tukový poměr = hmotnost intraperitoneálního tuku × 100 / tělesná hmotnost (BW).



U vlivu testovaných krmiv na složení celého těla odchovávaných ryb bylo zjištěno, že interakce bílkovin a tuků v testovaných krmivech měla jen mírný vliv na složení bílkovin a tuků v celém těle odchovaných juvenilních ryb lipana podhorního. Zvýšení obsahu tuků v testovaných krmivech vedlo ke snížení obsahu vlhkosti v celém těle ryb (Tab. 8).

Tab.8. Složení celého těla (% v sušině) u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními krmivy po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	Vlhkost	Bílkoviny	Tuky	Popeloviny
Průměry jednotlivých skupin						
B30T10	30	10	72,0	59,1	29,0	11,1
B40T10	40	10	71,8	58,7	29,1	12,2
B50T10	50	10	72,2	58,2	31,9	9,90
B30T20	30	20	71,1	56,7	31,8	10,9
B40T20	40	20	70,2	57,5	30,9	11,5
B50T20	50	20	70,6	58,9	30,0	11,3
SEM			0,23	0,34	0,41	0,26
Průměry testovaných faktorů						
	30		71,5	57,9	30,4	11,0
	40		71,0	58,1	30,0	11,9
	50		71,4	58,5	30,8	10,6
		10	72,0 ^B	58,7	30,0	11,1
		20	70,6 ^A	57,7	30,8	11,3
Dvoucestná analýza rozptylu (P - hodnoty)						
Bílkoviny			0,45	0,74	0,62	0,12
Tuky			0,00	0,16	0,29	0,72
Interakce			0,65	0,17	0,03	0,17

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 40). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

Obsah tuků ve hřbetní svalovině odchovaných juvenilních ryb lipana podhorního se zvyšoval s nárůstem obsahu tuku v testovaných krmivech. Naopak obsah popelovin se ve hřbetní svalovině zvyšoval se zvyšujícím se obsahem bílkovin v testovaných krmivech (Tab. 9).



Tab. 9. Složení hřbetní svaloviny (% v sušině) u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními krmivami po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	Vlhkost	Bílkoviny	Tuky	Popeloviny
Průměry jednotlivých skupin						
B30T10	30	10	77,7	83,0	10,8	6,31
B40T10	40	10	78,1	84,0	9,90	6,52
B50T10	50	10	78,2	84,3	9,04	6,85
B30T20	30	20	77,8	82,9	11,2	6,55
B40T20	40	20	77,5	83,1	10,9	6,37
B50T20	50	20	77,3	83,7	10,3	6,67
SEM			0,12	0,30	0,31	0,06
Průměry testovaných faktorů						
	30		77,8	82,9	11,0	6,43^a
	40		77,8	83,0	10,9	6,44^a
	50		77,7	84,0	9,70	6,76^b
		10	77,9	83,8	9,93^A	6,56
		20	77,5	82,9	11,1^B	6,52
Dvoucestná analýza rozptylu (P - hodnoty)						
Bílkoviny			0,98	0,30	0,12	0,01
Tuky			0,07	0,15	0,04	0,69
Interakce			0,30	0,44	0,47	0,11

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 40). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

Analýza složení mastných kyselin ukázala, že bez ohledu na druh krmení byly dominantními mastnými kyselinami v hřbetní svalovině kyselina olejová (OA) (18:1n-9), kyselina palmitová (16:0), kyselina linolová (LA) (18:2n-6) a kyselina dokosahexaenová (DHA) (22:6n-3) (Tab. 10). Zvyšující se obsah bílkovin v testovaných krmivech byl doprovázen zvýšením obsahu následujících mastných kyselin ve hřbetní svalovině: 14:0, 14:1n-7, 15:0, 16:0, 16:1n-7, 16:2n-4, 17:0, 16:4n-3, 18:0, 18:1n-7, 18:2n-9, 18:2n-4, 18:4n-1, 20:1n-5, 20:2n-9, kyselina arachidonová (ARA) (20:4n-6), kyselina eikosapentaenová (EPA) (20:5n-3), kyselina dokosapentaenová (22:5n-6), celkový obsah nasycených mastných kyselin a celkový obsah n-6 polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LC-PUFA). Naopak celkový obsah mononenasycených mastných kyselin (MUFA), celkový obsah n-6, DHA/EPA a n-6/n-3 se ve hřbetní svalovině snížily při vyšším obsahu bílkovin v krmivech (Tab. 10).

Zvyšující se obsah tuku v testovaných krmivech významně zvýšil obsah kyseliny olejové, kyseliny linolové, kyselina linolenová (18:3n-3), 18:3n-1, 20:0, 20:1n-7, 20:2n-6, 20:3n-3, celkový obsah MUFA a n-6 a poměry mezi DHA/EPA a n-6/n-3. Naopak vyšší obsah tuků v testovaných krmivech způsobilo snížení obsahu EPA, DHA, celkového množství: n-6 LC-PUFA, n-3, n-3 LC-PUFA a EPA/ARA (Tab. 10).



Tab. 10. Složení mastných kyselin hřbetní svaloviny u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními krmivý po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii (v % z celkového množství identifikovaných MK).

Mastné kyseliny	Testovaná krmiva						SEM	Bílkoviny (%)			Tuky (%)		Dvoucestná analýza rozptylu (P-value)		
	B30T10	B30T20	B40T10	B40T20	B50T10	B50T20		30	40	50	10	20	Bílkoviny	Tuky	Interakce
14:0	1,99	1,82	1,99	2,02	2,67	2,03	0,08	1,91 ^a	2,00 ^a	2,35 ^b	2,22 ^B	1,96 ^A	0,01	0,02	0,03
14:1n-7	0,02	0,01	0,03	0,02	0,04	0,02	0,00	0,01 ^a	0,02 ^{ab}	0,03 ^b	0,03 ^B	0,02 ^A	0,01	0,00	0,09
14:1n-5	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,06	0,00	0,06	0,06	0,07	0,06	0,06	0,13	0,69	0,08
15:0	0,23	0,22	0,23	0,23	0,28	0,23	0,01	0,22 ^a	0,23 ^{ab}	0,25 ^b	0,24 ^B	0,22 ^A	0,02	0,04	0,02
15:1n-5	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,97	0,09	0,42
16:0ISO	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,00	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,15	0,69	0,41
16:0	15,1	14,3	16,3	14,7	19,2	14,8	0,45	14,7 ^a	15,5 ^a	17,0 ^b	16,9 ^B	14,6 ^A	0,01	0,00	0,01
16:1n-7	3,39	2,81	3,88	3,17	4,65	3,15	0,15	3,10 ^a	3,53 ^b	3,90 ^c	3,97 ^B	3,04 ^A	0,00	0,00	0,00
16:1n-5	0,10	0,08	0,09	0,09	0,11	0,09	0,00	0,09	0,09	0,10	0,10 ^A	0,08 ^B	0,05	0,02	0,17
16:2n-6	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,07	0,90	0,69
16:2n-4	0,21	0,17	0,23	0,20	0,26	0,21	0,01	0,19 ^a	0,22 ^b	0,24 ^c	0,23 ^B	0,20 ^A	0,00	0,00	0,12
17:0	0,18	0,13	0,20	0,16	0,23	0,18	0,01	0,16 ^a	0,18 ^b	0,20 ^c	0,20 ^A	0,16 ^B	0,00	0,00	0,22
16:3n-4	0,18	0,18	0,18	0,19	0,21	0,18	0,00	0,18	0,18	0,19	0,19	0,18	0,11	0,09	0,06
16:3n-3	0,10	0,08	0,11	0,08	0,09	0,08	0,01	0,09	0,10	0,09	0,10	0,08	0,78	0,10	0,72
16:3n-1	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,03 ^B	0,02 ^A	0,15	0,00	0,10
16:4n-3	0,15	0,10	0,18	0,13	0,19	0,15	0,01	0,13 ^a	0,15 ^b	0,17 ^b	0,17 ^B	0,13 ^A	0,01	0,00	0,84
16:4n-1	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02 ^A	0,01 ^B	0,80	0,01	0,35
18:0	3,31	3,04	3,65	3,16	4,07	3,28	0,09	3,17 ^a	3,40 ^a	3,68 ^b	3,68 ^B	3,16 ^A	0,00	0,00	0,06
18:1n-9	27,6	34,7	24,8	33,6	23,4	30,6	1,05	31,2 ^b	29,2 ^a	27,0 ^a	25,3 ^A	32,9 ^B	0,00	0,00	0,42
18:1n-7	2,83	2,67	2,96	2,80	3,20	2,80	0,05	2,75 ^a	2,88 ^b	3,00 ^b	3,00 ^B	2,76 ^A	0,03	0,00	0,27
18:1n-5	0,13	0,12	0,12	0,12	0,13	0,12	0,00	0,13	0,12	0,12	0,12	0,12	0,46	0,57	0,11
18:2n-9	0,06	0,05	0,06	0,06	0,07	0,05	0,00	0,05 ^a	0,06 ^b	0,06 ^b	0,07 ^B	0,05 ^A	0,00	0,00	0,07
18:2n-6	10,8	11,7	8,65	10,7	7,03	9,56	0,38	11,2 ^c	9,70 ^b	8,30 ^a	8,81 ^A	10,7 ^B	0,00	0,00	0,00



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

18:2n-4	0,14	0,11	0,16	0,13	0,19	0,14	0,01	0,13 ^a	0,15 ^a	0,17 ^b	0,17 ^B	0,13 ^A	0,00	0,00	0,00
18:3n-6	0,24	0,22	0,18	0,19	0,15	0,18	0,01	0,23 ^a	0,19 ^b	0,18 ^b	0,19	0,20	0,00	0,38	0,14
18:3n-4	0,13	0,10	0,13	0,11	0,13	0,12	0,00	0,11	0,12	0,13	0,13 ^A	0,11 ^B	0,19	0,00	0,45
18:3n-3	2,33	2,89	1,96	2,81	1,58	2,61	0,11	2,61 ^c	2,39 ^b	2,10 ^a	1,96 ^A	2,77 ^B	0,00	0,00	0,00
18:3n-1	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,00	0,03	0,03	0,02	0,02 ^A	0,03 ^B	0,84	0,00	0,93
18:4n-3	0,80	0,69	0,76	0,75	0,72	0,76	0,02	0,74	0,75	0,74	0,76	0,73	0,91	0,38	0,16
18:4n-1	0,11	0,08	0,13	0,10	0,13	0,11	0,00	0,10 ^b	0,11 ^a	0,12 ^a	0,12 ^B	0,10 ^A	0,00	0,00	0,69
20:0	0,18	0,21	0,17	0,20	0,17	0,19	0,00	0,19	0,19	0,18	0,17 ^A	0,20 ^B	0,22	0,00	0,94
20:1n-9	0,32	0,30	0,30	0,31	0,30	0,30	0,01	0,31	0,30	0,30	0,31	0,30	0,60	0,82	0,48
20:1n-7	2,81	2,88	2,48	2,79	2,45	2,68	0,05	2,84 ^b	2,64 ^{ab}	2,57 ^a	2,58 ^A	2,78 ^B	0,02	0,01	0,36
20:1n-5	0,17	0,16	0,17	0,16	0,19	0,17	0,00	0,16 ^a	0,17 ^{ab}	0,19 ^b	0,18 ^B	0,16 ^A	0,03	0,00	0,49
20:2n-9	0,07	0,05	0,08	0,07	0,09	0,07	0,00	0,06 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b	0,08 ^B	0,07 ^A	0,03	0,00	0,94
20:2n-6	0,62	0,62	0,55	0,60	0,46	0,58	0,01	0,62 ^c	0,58 ^b	0,52 ^a	0,54 ^A	0,60 ^B	0,00	0,00	0,00
20:3n-9	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,00	0,03	0,03	0,04	0,04 ^B	0,03 ^A	0,18	0,01	0,11
20:3n-6	0,24	0,17	0,23	0,18	0,19	0,17	0,01	0,20 ^a	0,20 ^a	0,18 ^b	0,22 ^B	0,17 ^A	0,00	0,00	0,00
20:4n-6	0,67	0,49	0,81	0,55	0,86	0,65	0,03	0,58 ^a	0,68 ^b	0,76 ^c	0,78 ^B	0,56 ^A	0,00	0,00	0,23
20:3n-3	0,21	0,24	0,19	0,24	0,17	0,23	0,01	0,23 ^b	0,22 ^{ab}	0,20 ^a	0,19 ^A	0,24 ^B	0,01	0,00	0,06
20:4n-3	0,44	0,40	0,45	0,42	0,43	0,46	0,01	0,42	0,44	0,44	0,44	0,42	0,44	0,28	0,09
20:5n-3	4,24	2,69	5,01	3,21	5,24	3,85	0,23	3,46 ^a	4,11 ^b	4,55 ^b	4,83 ^B	3,25 ^A	0,00	0,00	0,59
22:1n-11	1,58	1,61	1,31	1,42	1,25	1,41	0,04	1,59 ^b	1,36 ^a	1,33 ^a	1,38	1,48	0,01	0,14	0,64
22:1n-9	0,36	0,37	0,33	0,35	0,30	0,33	0,01	0,37 ^b	0,34 ^{ab}	0,32 ^a	0,33	0,35	0,04	0,24	0,83
22:4n-6	0,08	0,06	0,09	0,06	0,08	0,08	0,00	0,07	0,08	0,08	0,09 ^B	0,07 ^A	0,28	0,00	0,11
22:5n-6	0,29	0,22	0,36	0,23	0,35	0,31	0,01	0,26 ^a	0,30 ^b	0,33 ^b	0,33 ^B	0,25 ^A	0,00	0,00	0,02
22:5n-3	1,41	0,94	1,58	1,03	1,50	1,28	0,06	1,18	1,31	1,39	1,50 ^B	1,08 ^A	0,07	0,00	0,15
22:6n-3	16,0	12,1	18,7	12,4	16,9	15,6	0,68	14,0	15,6	16,3	17,2 ^B	13,4 ^A	0,15	0,00	0,11
Celkem SFA	21,0	19,7	22,5	20,5	26,6	20,7	0,61	20,3 ^a	21,5 ^a	23,6 ^b	23,4 ^B	20,3 ^A	0,00	0,00	0,01
Celkem MUFA	39,4	45,8	26,5	44,9	36,1	41,8	0,97	42,6 ^b	40,7 ^{ab}	39,0 ^a	37,3 ^A	44,2 ^B	0,01	0,00	0,35
Celkem n-6	12,9	13,5	10,9	12,6	9,1	11,5	0,35	13,2 ^c	11,7 ^b	10,3 ^a	11,0 ^A	12,5 ^B	0,00	0,00	0,00
Celkem n-6 LC-PUFA	1,91	1,56	2,04	1,62	1,95	1,79	0,04	1,73 ^a	1,83 ^b	1,86 ^b	1,96 ^B	1,66 ^A	0,00	0,00	0,00



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Celkem n-3	25,7	20,1	29,0	21,1	26,9	25,0	0,90	22,9	25,0	25,9	27,2^B	22,1^A	0,14	0,00	0,15
Celkem n-3 LC-PUFA	22,3	16,3	26,0	17,3	24,3	21,4	0,96	19,3	21,7	22,8	24,2^B	18,4^A	0,06	0,00	0,15
EPA + DHA	20,2	14,8	23,7	15,6	22,2	19,5	0,90	17,5	19,7	20,8	22,0^B	16,6^A	0,06	0,00	0,15
EPA/ARA	6,31	5,50	6,21	5,82	6,07	5,90	0,10	5,91	6,02	5,99	6,20^B	5,74^A	0,87	0,02	0,33
DHA/EPA	3,77	4,44	3,73	3,87	3,23	4,05	0,10	4,11^b	3,80^{ab}	3,64^a	3,58^A	4,12^B	0,01	0,00	0,03
n-6/n-3	0,51	0,69	0,38	0,60	0,34	0,46	0,03	0,60^b	0,49^{ab}	0,40^a	0,41^A	0,59^B	0,00	0,00	0,54

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze tří opakování ($n = 24$). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi skupinami ($P < 0,05$). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.



Výsledky z experimentu dále ukázaly, že zvýšení obsahu bílkovin v testovaných krmivech vedlo ke snížení koncentrace triglyceridů (TG) a ke zvýšení koncentrace celkového cholesterolu (CHO) v krevní plazmě. Významné zvýšení koncentrace celkového cholesterolu (CHO) bylo zjištěno i u krmiv s vyšším obsahu tuků. Nejnižší hladina glukózy v krevní plazmě byla zaznamenána u krmiva obsahující 40 % bílkovin. Tato hladina glukózy se významně lišila od ostatních skupin. Hladina glukózy v krevní plazmě se zvyšovala při vyšším obsahu tuků v testovaných krmivech. Aktivita ALT a AST v krevní plazmě byly ovlivněny pouze obsahem tuků v testovaných krmivech. Nižší aktivity ALT a AST v krevní plazmě byly zaznamenány při vyšším obsahu tuků v krmivech. Na druhé straně aktivita LDH v krevní plazmě klesala se zvyšujícím se obsahem bílkovin a tuků v testovaných krmivech. Hladina celkového proteinu v krevní plazmě a aktivita ALP se mezi jednotlivými pokusnými skupinami nelišily (Tab. 11).

Tab. 11. Biochemické parametry krevní plazmy po 24 hodinách od posledního krmení u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními dietami po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	TP	TG	CHO	GLU	ALT	AST	ALP	LDH
Průměry jednotlivých skupin										
B30T10	30	10	4,08	264	218	76,4	48,3	835	380	7704
B40T10	40	10	4,38	256	242	75,6	32,2	719	344	5192
B50T10	50	10	4,51	220	277	83,1	33,0	611	363	5767
B30T20	30	20	4,48	473	279	103	28,3	592	386	4437
B40T20	40	20	4,16	426	258	84,4	28,7	519	332	4389
B50T20	50	20	4,49	379	277	96,2	34,3	605	350	3416
SEM			0,07	23,2	6,11	2,73	2,16	33,4	8,02	330
Průměry testovaných faktorů										
	30		4,28	368 ^b	248 ^a	89,8 ^b	38,3	713	383	6070 ^b
	40		4,27	341 ^b	250 ^a	80,0 ^a	30,4	619	338	4790 ^a
	50		4,50	300 ^a	277 ^b	89,7 ^b	33,7	608	357	4591 ^a
		10	4,32	247 ^B	246 ^A	78,4 ^A	37,9 ^B	721 ^B	363	6221 ^B
		20	4,37	426 ^A	271 ^B	94,6 ^B	30,4 ^A	572 ^A	356	4080 ^A
Dvoucestná analýza rozptylu (P-value)										
Bílkoviny			0,27	0,00	0,01	0,03	0,20	0,25	0,09	0,00
Tuky			0,70	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,68	0,00
Interakce			0,17	0,11	0,01	0,07	0,06	0,20	0,85	0,00

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze tří opakování ($n = 24$). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami ($P < 0,05$). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.



TP: celkový protein (g.dl^{-1}).

TG: triglyceridy (mg.dl^{-1}).

CHO: celkový cholesterol (mg.dl^{-1}).

GLU: Glukóza (mg.dl^{-1}).

ALT: Alaninaminotransferáza (U.dl^{-1}).

AST: Aspartátaminotransferáza (U.l^{-1}).

ALP: alkalická fosfatáza (U.l^{-1}).

LDH: laktátdehydrogenáza (U.l^{-1}).

Aktivita antioxidační superoxiddismutázy (SOD) byla stanovena pomocí soupravy SOD Assay Kit (Sigma, 19160). Pro měření aktivity katalázy (CAT) a koncentrace malondialdehydu (MDA) byly použity komerční testovací kity od firmy ThermoFisher Scientific (CA, USA) a Sigma-Aldrich (USA).

Pro stanovení aktivity lysozymu byla použita upravená turbidimetrická metoda podle Swaina a kol. (2007). Celkem 20 μl krevního séra bylo umístěno do 96jamkových destiček s plochým dnem. Poté bylo do každé jamky přidáno 180 μl suspenze *Micrococcus lysodeikticus* (0,2 mg.ml^{-1} , od firmy Sigma-Aldrich, USA) rozpuštěné ve 40 mM fosforečnanu sodném (pH 6,2) sloužící jako substrát pro lysozym. Každý vzorek byl analyzován přidáním 20 μl krevní plazmy do 180 μl pufru fosforečnanu sodného. Hodnoty byly měřeny absorpčně při vlnové délce 450 nm po 20 minutách při teplotě 35 °C na mikrodestičkové čtečce Bio-Rad 550.

Aktivita myeloperoxidázy (MPO) byla stanovena podle Quadeho a Rotha (1997). Celkem 20 μl krevní plazmy bylo zředěno HBSS (Hanks Balanced Salt Solution, Sigma-Aldrich, USA) bez iontů Ca^{2+} nebo Mg^{2+} a aplikováno na 96jamkovou destičku. Poté bylo přidáno 35 μl 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin hydrochloridu (TMB, 20 mM) a H_2O_2 (5 mM) (Sigma-Aldrich, USA). Reakce změny barvy byla po 2 minutách zastavena přidáním 35 μl 4 M kyseliny sírové. Nakonec byla na mikrodestičkové čtečce Bio-Rad 550 stanovena optická hustota vzorků při vlnové délce 450 nm.

Antiproteázová aktivita v krevní plazmě byla kvantifikována s úpravami metody stanovené Ellis a kol. (1990) a Magnadóttir a kol., 1999. Celkem 20 μl krevní plazmy bylo inkubováno s 20 μl standardního roztoku trypsinu (typ II-S, z prasečí slinivky, 5 mg.ml^{-1} , Sigma-Aldrich, USA) po dobu 10 minut při teplotě 22 °C. Poté bylo přidáno 200 μl fosfátového pufru (0,1 M, pH 7,0) a 250 μl azokaseinu (2 %) (Sigma-Aldrich, USA) a inkubováno po dobu 1 hodiny při teplotě 22 °C. Poté bylo přidáno 500 μl kyseliny trichloroctové (10 %) a inkubováno 30 minut při teplotě 22 °C. Následně byla směs odstředěna odstředivou silou 6000 $\times g$ po dobu 5 minut. Následně, po přidání 100 μl supernatantu byla umístěna získaná směs do jamek 96jamkové mikrodestičky s plochým dnem obsahující 100 μl 1 N NaOH. Koncentrace výsledné směsi vzorků byla hodnocena při vlnové délce 430 nm. U pozitivní kontroly nahradil pufr krevní plazmu a u negativní kontroly nahradil pufr krevní plazmu i trypsin. Pro stanovení inhibice trypsinu byla použita následující rovnice:

U skupiny ryb lipana podhorního, které byly krmeny krmivem obsahující 40 % bílkovin, byla zjištěna vyšší aktivita uperoxiddismutázy (SOD), koncentrace malondialdehydu (MPO) a aktivita antiproteáz v krevní plazmě, i když rozdíly nebyly mezi skupinami nebyly statisticky významné (Tab. 12).

Koncentrace malondialdehydu (MDA) v krevní plazmě se významně zvýšila u krmiv s vyšším obsahem tuků (20 %) a zvýšeným obsahem proteinů z 30 na 50 %. Navíc zvýšení



obsahu tuků v krmivu způsobilo zvýšení koncentrace malondialdehydu v krevním plazmě. U aktivit CAT a lysozymu nebyly pozorovány žádné výrazné změny mezi skupinami na konci tohoto experimentu (Tab. 12).

Tab. 12. Sérové antioxidační a vrozené imunitní parametry po 24 hodinách od posledního krmení juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními dietami po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	SOD	CAT	MDA	LYZ	MPO	AP
Průměry jednotlivých skupin								
B30T10	30	10	49,1	36,4	170	12,7	1,33	30,2
B40T10	40	10	57,7	34,2	213	12,2	1,45	35,8
B50T10	50	10	62,4	36,8	243	12,9	1,47	33,6
B30T20	30	20	55,6	38,5	254	12,7	1,75	33,9
BP40T20	40	20	58,3	37,2	227	12,4	1,70	34,4
BP50T20	50	20	49,2	36,4	274	12,4	1,53	33,2
SEM			1,58	0,61	9,96	0,45	0,04	0,62
Průměry testovaných faktorů								
	30		52,3	37,4	212^a	12,7	1,54	32,0
	40		58,0	35,7	220^{ab}	12,3	1,57	35,1
	50		55,8	36,6	258^b	12,6	1,50	33,4
		10	56,4	35,8	208^a	12,6	1,42^A	33,2
		20	54,4	37,3	252^b	12,5	1,66^B	33,8
Dvoucestná analýza rozptylu (P-value)								
Bílkoviny			0,22	0,53	0,04	0,95	0,63	0,11
Tuky			0,43	0,23	0,01	0,94	0,00	0,59
Interakce mezi bílkovinami a tuky			0,02	0,53	0,14	0,95	0,08	0,16

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze čtyř opakování (n = 24). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

SOD: Aktivita superoxiddismutázy (% inhibice).

CAT: Katalázová aktivita (U.ml⁻¹).

MDA: Koncentrace malondialdehydu (nmol.ml⁻¹).

LYZ: Aktivita lysozymu (U.ml⁻¹).

MPO: Aktivita myeloperoxidázy (U.ml⁻¹).

AP: Antiproteázová aktivita (% inhibice trypsinu).

Na závěr experimentu byla zjištěna vyšší koncentrace amoniaku ve vodě po 5 a 24 hodinách od posledního krmení u ryb, které byla krmeny krmivem s vyšším obsahem bílkovin (50 %). Naopak zvyšující se obsah tuků v krmivech koncentraci vylučovaného amoniaku do vody snižoval (Tab. 12).

Koncentrace amoniaku v krevní plazmě vykazovala podobný trend jako koncentrace amoniaku ve vodě bez významného rozdílu mezi jednotlivými testovanými krmivy (Tab. 13).



Tab. 13. Koncentrace amoniaku v krevní plazmě ($\text{NH}_3 - \mu\text{mol.l}^{-1}$) po 5 hodinách po krmení a koncentrace amonného dusíku v odchovné vodě ($\text{NH}_4^+\text{-N} - \text{mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) po 5 a 24 hodinách od posledního krmení u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) krmených experimentálními dietami po dobu 12 týdnů v rámci intenzivního chovu využívajícího RAS technologii.

Testovaná krmiva	Bílkoviny (%)	Tuky (%)	Krevní plazma	Odchovná voda	
			5h	5h	24h
Průměry jednotlivých skupin					
B30T10	30	10	630	11,1	14,0
B40T10	40	10	595	13,5	14,9
B50T10	50	10	648	17,0	20,8
B30T20	30	20	503	9,80	10,9
BP40T20	40	20	556	8,90	11,6
BP50T20	50	20	625	11,5	15,3
SEM			20,2	0,72	0,91
Průměry testovaných faktorů					
	30		566	10,5 ^a	12,4 ^a
	40		576	11,2 ^b	13,3 ^a
	50		637	14,3 ^c	18,1 ^b
		10	624	13,9 ^B	16,6 ^B
		20	562	10,1 ^A	12,6 ^A
Dvoucestná analýza rozptylu (P-value)					
Bílkoviny			0,31	0,01	0,00
Tuky			0,13	0,00	0,00
Interakce			0,52	0,12	0,65

Vysvětlivky: Hodnoty jsou průměrem ze tří opakování (n = 3). Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými faktory a skupinami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

6.3 Závěr

Tento experiment ukázal na velmi efektivní odchov juvenilních ryb lipana podhorního s počáteční (TL= 127,2 ± 27,6 mm a W= 25,2 ± 0,3 g) a konečnou velikostí a hmotností těla (TL= 205,2 ± 27,6 mm a W= 87,2 ± 13,6 g) v kontrolovaných intenzivních podmínkách RAS, kdy ryby dosahovaly finálního přežití za 12 týdnů odchovu úrovně 98–100 %.

Dále výsledky tohoto experimentu potvrdily, že krmiva s 40 % obsahem bílkovin mohou významně podpořit růst lipana podhorního se zmíněnou tělesnou velikostí a hmotností. Naopak zvýšení obsahu tuku v krmivu na 20 % může zvýšit efektivitu krmiva (FE) a účinnost proteinů (PER). Zvýšení obsahu bílkovin v krmivu pro juvenilní ryby lipana podhorního vedlo ke zvýšení obsahu mastných kyselin: ARA, EPA a celkového obsahu n-6 LC-PUFA ve hřbetní svalovině. Naopak zvýšení obsahu tuků v krmivu vedlo ke snížení EPA, DHA a celkového obsahu n-3 LC-PUFA a n-6 LC-PUFA ve hřbetní svalovině. Kromě toho byl při zvýšení obsahu



bílkovin v krmivu sledován snížený poměr DHA/EPA a n-6/n-3. Naopak při vyšším obsahu tuků v krmivu se tyto poměry zvýšily. Snížení aktivit ALT a AST naznačovalo zlepšení stavu jater při krmení juvenilních ryb lipana podhorního krmivem s vyšším obsahem tuků. Zvyšující se obsah tuku v krmivech vedl ke snížení vylučování amoniaku do chovné vody rybami.

Použitá literatura:

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2002. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 17th Edn. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Ellis, A. E., Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Roberson, W. B., and Van muiswinker, W. B., 1990. Serum Antiprotease in Fish. Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, NJ: SOS Publication.
- Folch, J., Lees, M., and Stanley, G. H. S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226, 497–509.
- Izquierdo, M., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., and Kitajima, C., 1990 Optimum EFA levels in Artemia to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). In: The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, eds.: M. Takeda and T. Watanabe, Tokyo: Tokyo University Fisheries, 221–232.
- Magnadóttir, B., Jonsdóttir, H., Helgason, S., Björnsson, B., Jørgensen, T., and Pilström, L., 1999. Humoral immune parameters in Atlantic cod *Gadus morhua* L. I: the effects of environmental temperature. Comp. Biochem. Physiol. 122, 173–180.
- Swain, P., Dash, S., Sahoo, P. K., Routray, P., Sahoo, S. K., Gupta, S. D., et al., 2007. Non-specific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. Fish Shellfish Immunol. 22, 38–43.

7 Vliv různé počáteční hustoty odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního na jejich přežití, růst, tělesnou kondici a konverzi předkládaného krmiva v rámci jejich intenzivního chovu v RAS

7.1 Materiál a metodika

Po uskutečněné realizaci předchozího experimentu došlo na obou partnerských pracovištích v rámci tohoto projektu (FROV JU a Rybářství Nové Hradky s.r.o.) k odběru vzorků, realizaci měření, třídění ryb a stanovení některých analýz v rámci předchozího experimentu. Současně došlo k přeskupení odchovaných juvenilních ryb lipana podhorního, k vyčištění a údržbě všech používaných RAS. Tyto zmíněné činnosti trvaly celkově 22 dní od 25.1.2022 do 14.2.2022. Toto období bylo ukončeno přípravou systémů a nasazením nových experimentálních ryb, které pocházely z rezervního hejna ryb chovaných na Rybářství Nové Hradky s.r.o. Tím byly vytvořeny nové podmínky pro zahájení dalšího experimentu, který vyhodnocoval vliv různé počáteční hustoty juvenilních ryb lipana podhorního (TL= 215,5 ± 17,8 mm; W= 90,0 ± 5,4 g) na jejich přežití, růst, tělesnou kondici a konverzi předkládaného krmiva a celkovou efektivitu chovu.

Na začátku experimentu byly celkem vytvořeny čtyři skupiny s různou počáteční hustotou odchovávaných juvenilních ryb lipana podhorního na úrovni 3,55 kg.m⁻³; 7,1 kg.m⁻³; 14,2 kg.m⁻³; 28,4 kg.m⁻³. Celkově bylo do 16 odchovných nádrží (12 na FROV JU a 4 na Rybářství



Nové Hradky s.r.o.) o jednotném objemu 380 litrů napojených na RAS (stejně jako v předchozích experimentech) nasazeno 15; 30; 60; a 120 ryb na jednu odchovnou nádrž. Celkově tedy do tohoto experimentu bylo nasazeno 900 ks juvenilních ryb lipana podhorního se zmíněnou počáteční kusovou hmotností a velikostí.

Nasazené ryby byly následně od 253. dne exogenní výživy (15.2.2022) po dobu 112 dní (do 365. dne od začátku exogenní výživy, konkrétně 31.5.2022) krmeny krmivem Skretting Europa F 15 (velikost pelet 2 a 3 mm) v denní krmné dávce 0,8–1,2 % denně z biomasy ryb a odchováány v optimálních podmínkách intenzivní akvakultury využívající RAS.

Celý tento experimentální chov byl proveden a koncipován stejným způsobem jako experimenty předchozí zahrnující stejně provedené odkalování nádrží, sběr nespotřebovaného krmiva v nádržích, údržbu RAS, sledování a měření kvality vody v průběhu experimentu, a také anestezii, měření a vážení odchovávaných ryb na začátku a na konci tohoto experimentu. Kvalita vody v průběhu experimentu byla následující: teplota vody $18,7 \pm 0,4$ °C, pH $6,9 \pm 0,2$, obsah rozpuštěného kyslíku $97,5 \pm 3,5$ %, celkový amoniak TAN = $0,45 \pm 0,15$ mg.l⁻¹ a dusitany NO₂⁻ = $0,39 \pm 0,11$ mg.l⁻¹.

Na konci celého odchovu po 112 dnech došlo díky získaným údajům o provedeném chovu zahrnující biometrické ukazatele ryb, množství spotřebovaného krmiva, počet přeživších ryb a finální biomasu k výpočtu produkčních ukazatelů jako je: Fultonův kondiční koeficient (FK), specifická rychlost růstu (SGR v %·d⁻¹), přežití ryb (P v %), míra výskytu deformit (MVD v %) a koeficient konverze krmiva (FCR v kg.kg⁻¹) dle uvedených vzorečků a metodiky v kapitole 4 této zprávy. Získané a vypočítané produkční ukazatele jsou v této zprávě uvedené jako průměrné hodnoty ± směrodatná odchylka. Statistické vyhodnocení těchto výsledků bylo provedeno v programu Statistika pomocí jedno–faktorové ANOVY a T-testu. Výsledky mezi skupinami byly porovnány a hodnoceny na hladině významnosti $p < 0,05$.

7.2 Výsledky

Na konci 112denního intenzivního odchovu juvenilních ryb lipana podhorního, který sledoval vliv počáteční hustoty ryb na jejich kondici a produkční ukazatele, nebyl prokázán vliv testovaného faktoru (hustoty ryb) na přežívání a kondici odchovaných remontních ryb. Ve všech skupinách bylo dosaženo poměrně vysoké a relativně vyrovnané míry přežití ryb na úrovni od 91,3–93,3 % a vysoké, a hlavně vyrovnané kondice ryb na úrovni FK = 1,22–1,33 (Tab. 14). Opět bylo potvrzeno, že je možné juvenilní až remontní ryby lipana podhorního úspěšně chovat v podmínkách intenzivní akvakultury, jestliže je využíván vhodné peletované krmivo a udržované optimální podmínky prostředí.

Na konci tohoto odchovu bylo potvrzeno, že různá počáteční hustota odchovávaných ryb statisticky průkazně ovlivnila růst ryb (TL, W a SGR), kdy nejvyšší růst byl potvrzen u skupin ryb odchovávaných při nízké až velmi nízké hustotě ryb (TL = 258,0–260,0 mm; W = 209,9–221,1 g; SGR = 0,75–0,8 %·d⁻¹). Současně bylo potvrzeno, že v těchto hustotách je rybami dosahováno nejlepší konverze krmiv na úrovni 1,1–1,2 kg.kg⁻¹ (Tab. 14).

Je pravdou, že každý chovatel si musí rozhodnout, jestli používat nízké a velmi nízké hustoty ryb, které zaručují nejvyšší růst a dobrou konverzi živin, ale relativně nízkou efektivitu produkce ryb. Do budoucna je důležité ještě ověřit, jestli není výhodnější a rentabilnější ryby chovat ve vyšších (dvoj až čtyřnásobných) hustotách s nižší rychlostí růstu o 10–37 % a nižší konverzí krmiva o 25–45 %.



Tab. 14. Počáteční a konečná velikost, kondice, hustota biomasy, rychlost růstu, míra přežití a výskytu deformit a koeficient konverze krmiva u juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) chovaných v intenzivním chovu využívající RAS technologii při počáteční různé hustotě ryb.

Počáteční hustota (kg.m ⁻³) (ks.m ⁻³)	Velmi nízká 3,55 39,5	Nízká 7,1 79	Střední 14,2 158	Vyšší 28,4 316
Produkční parametr				
Počáteční hmotnost W (g)	90,0 ± 5,4 ^a	90,0 ± 5,4 ^a	90,0 ± 5,4 ^a	90,0 ± 5,4 ^a
Počáteční délka těla TL (mm)	215,5 ± 17,8 ^a	215,5 ± 17,8 ^a	215,5 ± 17,8 ^a	215,5 ± 17,8 ^a
Počáteční biomasa (kg.m ⁻³)	3,55 ± 0,25 ^a	7,1 ± 0,30 ^b	14,2 ± 0,38 ^c	28,4 ± 0,37 ^d
Počáteční FK	0,91 ± 0,1 ^a	0,91 ± 0,1 ^a	0,91 ± 0,1 ^a	0,91 ± 0,1 ^a
Konečná hmotnost W (g)	209,9 ± 12,2 ^b	221,1 ± 14,8 ^c	194,9 ± 18,3 ^{ab}	173,5 ± 21,5 ^a
Konečná délka těla TL (mm)	258,0 ± 20,4 ^{ab}	260,0 ± 18,8 ^b	245,5 ± 13,6 ^a	240 ± 15,6 ^a
Konečný FK	1,22 ± 0,2 ^a	1,26 ± 0,2 ^a	1,33 ± 0,2 ^a	1,26 ± 0,2 ^a
Konečná biomasa (kg.m ⁻³)	6,4 ± 0,8 ^a	13,6 ± 1,1 ^b	22,8 ± 1,2 ^c	38,1 ± 1,4 ^d
SGR (%.d ⁻¹)	0,76 ± 0,1 ^{bc}	0,80 ± 0,2 ^c	0,69 ± 0,1 ^{ab}	0,58 ± 0,1 ^a
Přežití (%)	91,6 ± 5,6 ^a	93,3 ± 2,4 ^a	92,5 ± 1,9 ^a	91,3 ± 5,1 ^a
Míra výskytu deformit (%)	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
FCR (kg.kg ⁻¹)	1,2 ± 0,4 ^a	1,1 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,2 ^b	1,5 ± 0,3 ^b

Vysvětlivky: Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi testovanými hustotami (P < 0,05). Tučně jsou zvýrazněné zajímavé statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami, které jsou komentované v textu zprávy.

7.3 Závěr

Díky této části projektu je možné konstatovat, že juvenilní až remontní ryby lipana podhorního je možné v rámci intenzivní akvakultury chovat v obsádkách při hustotách 3,55–38,1 kg.m⁻³ s poměrně vysokým přežitím a dobrou kondicí ryb. Jenže vyšší zvolené hustoty u odchovávaných ryb lipana podhorního mohou snižovat jejich růst, a především konverzi živin, což může chov ryb celkově prodražit. Nicméně i nízká používaná hustota odchovávaných ryb intenzivní chov prodražuje. Z tohoto hlediska je důležité, aby chovatelé v budoucnosti našli určitý kompromis a vybalancování mezi používanými počátečními hustotami odchovávaných ryb, sníženými produkčními parametry a vlastní rentabilitou chovu.



8 Následný odchov ročních remontních ryb lipana podhorního v různých podmínkách chovu s cílem získat kvalitní pohlavně dospělé a zralé mladé generační ryby

8.1 Materiál a metodika

Po prvním roce intenzivního chovu ryb lipana podhorního byly na obou pracovištích (FROV JU a Rybářství Nové Hradky s. r.o.) poměrně úspěšně odchovány remontní ryby, ze kterých bylo v polovině června roku 2022 (13.6.2022) celkově vyříděno 1800 kusů ryb o kusové hmotnosti 195–215 g (průměr 205 g). Zmíněné remontní ryby lipana podhorního byly rozděleny na dvě početně identické skupiny (900 kusů). Dané ryby se následně vysadily do dalšího odchovu, který byl tvořen dvěma způsoby odchovu. Tyto způsoby odchovu se odlišovaly různými podmínkami prostředí. Konkrétně dva způsoby odchovu byly tvořeny odchovem remontních ryb v kontrolovaných podmínkách intenzivní akvakultury využívající RAS technologii (na FROV JU) nebo odchovem v přírodním náhonu (na Rybářství Nové Hradky s.r.o.) poskytující rybám přirozenou teplotu vody, fotoperiodu a možnost také přijímat částečně přirozenou potravu v podobě náletového hmyzu na hladině či různého makrozoobentosu. Cílem této části projektu bylo v průběhu 10 měsíců s tříměsíčním intervalem (v termínech nasazení: 13.6.2022; 13.9.2022; 13.12.2022; 13.3.2023 a výtěrové období: 14.4.-5.5.2023) sledovat vývoj kondice odchovávaných ryb (TL-celková délka, W-tělesná hmotnost, FK-Fultonův kondiční koeficient, HSI-hepatosomatický index a VSI-viscerosomatický index), které byly zjišťovány podle metodiky popsané v předchozích kapitolách této zprávy, především v kapitole 6. Vedle zmíněných kondičních parametrů ryb byl ještě (a to především) zjišťován gonadosomatický index prezentující vývoj a zvětšování gonád u obojího pohlaví, a tím připravenost mlíčáků a jikernaček k případnému výtěru podle níže uvedeného vzorečku: Gonadosomatický index = hmotnost gonád (vaječníků či varlat) $\times$ 100 / tělesná hmotnost (BW).

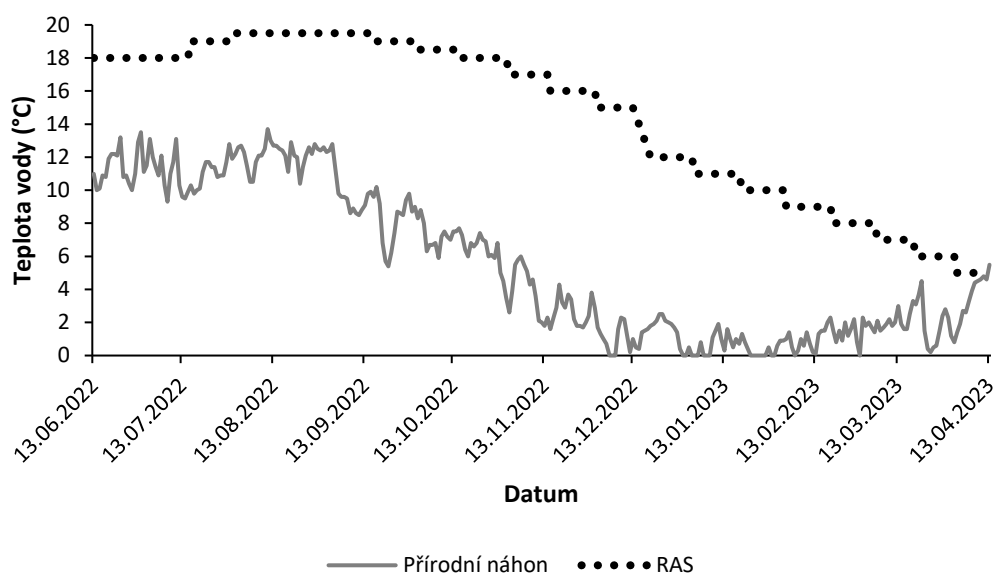
Orgány byly vždy odebírány od 5-10 ks humánně usmrčených ryb (již bylo také popsáno) od každého pohlaví z každého způsobu chovu.

V průběhu 10měsíčního odchovu byly denně podle již známé a popsané metodiky viz předchozí kapitoly v obou chovech (jak v RAS na FROV JU, tak v přírodním náhonu na Rybářství Nové Hradky s.r.o.) sledovány všechny parametry kvality vody zahrnující: teplotu vody v RAS = $14,5 \pm 4,90$ °C a náhonu = $5,6 \pm 4,51$ °C (Obr. 1); délku světelného dne v RAS = $10,8 \pm 3,56$ hodin a v náhonu = $11,7 \pm 2,72$ hodin (Obr. 2), obsah rozpuštěného kyslíku v RAS = $98,6 \pm 2,8$ % a v náhonu = $118,5 \pm 17,6$ %; pH v RAS = $6,7 \pm 0,2$ a náhonu = $6,5 \pm 0,4$.

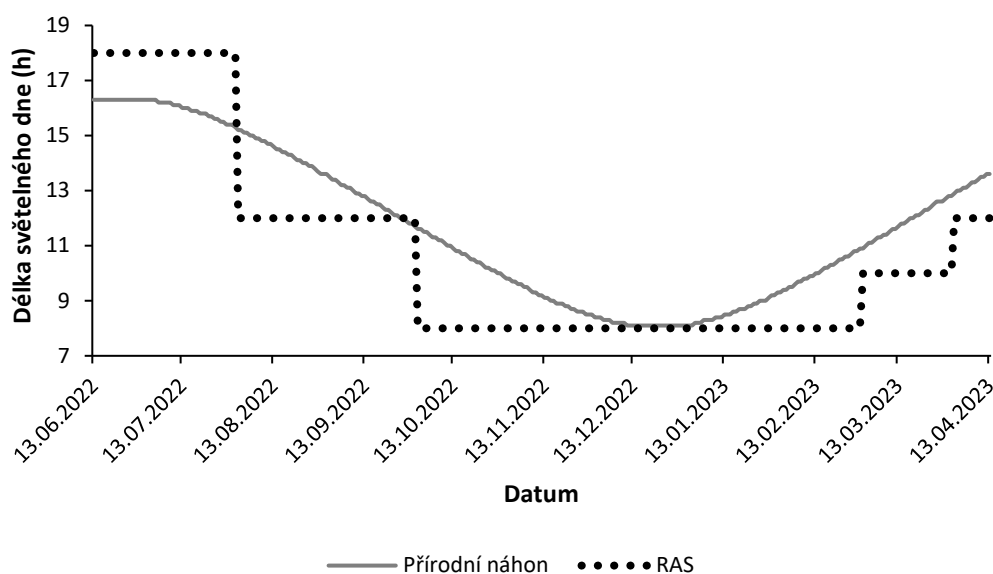
Remontní ryby byly krmeny (v RAS s denní krmnou dávkou 0,6–1 % z biomasy) nebo přikrmovány (v přírodním náhonu s denní krmnou dávkou 0,4–0,8 % z biomasy) peletovaným umělým krmivem od firmy Skretting (Europa 15 F; velikost pelet: 3 a 5 mm) podle aktivního příjmu krmiva rybami. Na závěr odchovu byl u odchovávaných remontních ryb také sumarizován úhyn všech ryb za celé období odchovu. Tohoto bylo docíleno tím, že denně v každém způsobu odchovu byl vždy evidován počet uhynulých ryb. Z údajů o mortalitě ryb byla spočítána míra přežití ryb (viz metodický postup popsaný v předchozích kapitolách této zprávy).



Následně byly získané a vypočítané produkční ukazatele matematicko-statisticky zpracovány a v této zprávě jsou uvedené jako průměrné hodnoty $\pm$ směrodatné odchylky z měřených hodnot. Statistické vyhodnocení těchto výsledků bylo provedeno v programu Statistika pomocí jedno-faktorové ANOVY a T-testu. Výsledky mezi pohlavím a způsobem odchovu byly porovnány a vyhodnoceny na hladině významnosti $p < 0,05$.



Obr. 1. Průběh teploty vody během chovného období (13.06.2022–13.04.2023) u remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) ve srovnání s dlouhodobým chovem v přírodním náhonu a RAS.



Obr. 2. Průběh délky světelného dne během chovného období (13.06.2022–13.04.2023) u remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) ve srovnání s dlouhodobým chovem v přírodním náhonu a RAS.



8.2 Výsledky

Na konci 10měsíčního odchovu bylo z přírodního náhonu celkem získáno 765 mladých pohlavně dospělých a dozrálých generačních ryb o kusové velikosti TL=237,9–241,1 mm, hmotnosti 302,1 – 305,6 g a v kondici v podobě Fultonova kondičního koeficientu 0,84–0,86. Tato skupina ryb dosáhla SGR na úrovni 0,13-0,14 %·d⁻¹ (Tab. 15).

Tato skupina jak u samců, tak i samic vykazovala vzrůstající hodnoty HSI a VSI s nejvyššími hodnotami v září, prosinci a březnu a sníženými hodnotami v období výtěru (Tab. 16, Obr.3 a 4). Naopak GSI samic i samců měl stoupající tendenci směrem k výtěrovému období. Samozřejmě GSI samic bylo významně vyšší než GSI samců, ale tendence zvyšujícího se GSI byla jasná směrem k výtěrovému období (Tab. 16, Obr.5). Tento trend jasně deklaroval úspěšnou gametogenezi u odchovávaných remontní ryb a jejich postupné pohlavní dospívání a dozrávání, které bylo podpořeno především přirozeným teplotně-světelným režimem (Obr.1 a 2).

Tab. 15. Počáteční a konečná velikost, kondice, rychlost růstu a míra přežití u remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) chovaných dvěma způsobu chovu (v RAS a přírodním náhonu) s cílem dosáhnout mladých generačních ryb.

Způsob chovu	Přírodní náhon		RAS	
	Samci	Samice	Samci	Samice
Pohlaví				
Počáteční hmotnost W (g)	205,0 ± 29,7 ^a	205,0 ± 29,7 ^a	205,0 ± 29,7 ^a	205,0 ± 29,7 ^a
Počáteční délka těla TL (mm)	276,0 ± 39,3 ^a	276,0 ± 39,3 ^a	276,0 ± 39,3 ^a	276,0 ± 39,3 ^a
Počáteční FK	0,98 ± 0,18 ^a	0,98 ± 0,18 ^a	0,98 ± 0,18 ^a	0,98 ± 0,18 ^a
Konečná hmotnost W (g)	237,9 ± 33,3^a	241,1 ± 34,8^a	265,9 ± 48,3^b	273,5 ± 51,5^b
Konečná délka těla TL (mm)	302,1 ± 42,4^a	305,6 ± 48,8^a	345,5 ± 13,6^b	350 ± 15,6^b
Konečný FK	0,86 ± 0,2^b	0,84 ± 0,2^b	0,64 ± 0,2^a	0,64 ± 0,2^a
SGR (%·d ⁻¹)	0,13 ± 0,1^a	0,14 ± 0,2^a	0,23 ± 0,1^a	0,26 ± 0,1^b
Přežití (%)	85,0		90,0	

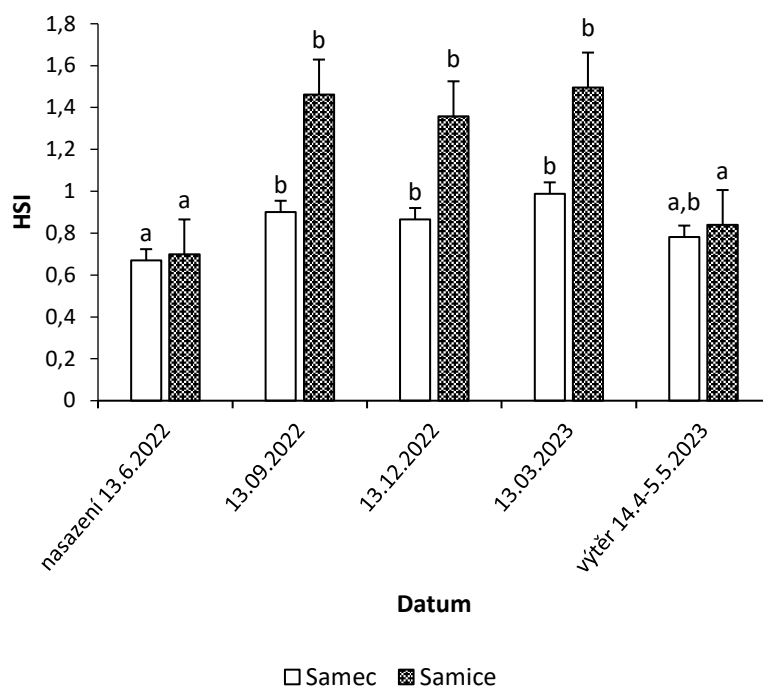
Vysvětlivky: Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi daným chovem a pohlavím ($P < 0,05$). Tučně jsou zobrazeny statisticky významné rozdíly, které jsou komentované v textu zprávy.



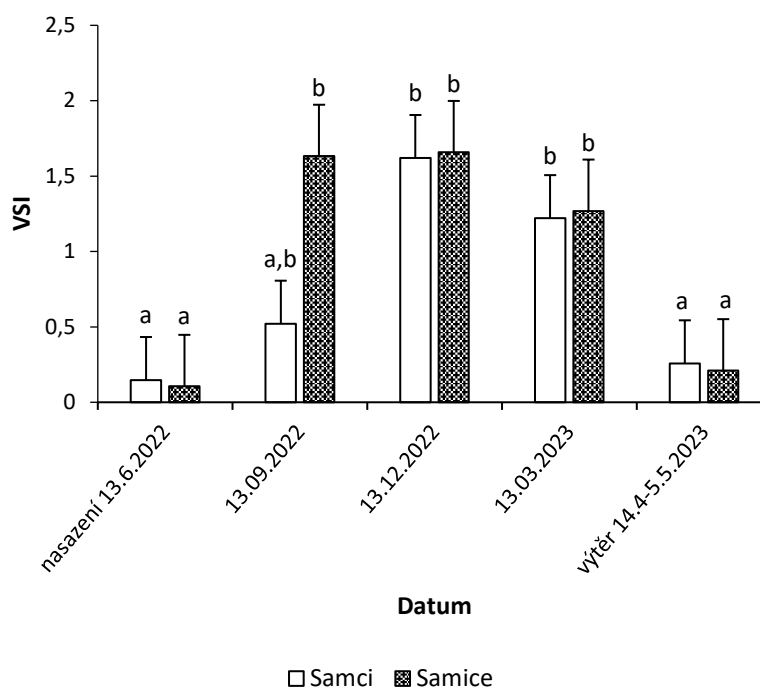
Tab. 16. Průběh a vývoj hepatosomatického, viscerosomatického a gonadosomatického indexu charakterizující kondici a vývoj gonád u remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v dalším 10měsíčním odchovu s cílem získat mladé generační ryby ve věku 22-23 měsíců.

Způsob chovu	Přírodní náhon		RAS	
Pohlaví	Samci	Samice	Samci	Samice
HSI				
Nasazení - 13.6.	0,67 ± 0,13 ^a	0,70 ± 0,14 ^a	0,67 ± 0,24 ^a	0,70 ± 0,15 ^a
13.9.	0,90 ± 0,17 ^b	1,46 ± 0,18 ^b	0,85 ± 0,15 ^a	0,99 ± 0,2 ^a
13.12.	0,87 ± 0,2 ^b	1,36 ± 0,26 ^b	0,85 ± 0,18 ^a	1,05 ± 0,23 ^b
13.3.	0,99 ± 0,1 ^b	1,50 ± 0,33 ^b	1,02 ± 0,25 ^b	1,1 ± 0,2 ^b
Výtěr 14.4.-5.5.2023	0,78 ± 0,2 ^{ab}	0,84 ± 0,28 ^a	-	-
VSI				
Nasazení - 13.6.	0,15 ± 0,09 ^a	0,11 ± 0,05 ^a	0,15 ± 0,09 ^a	0,11 ± 0,05 ^a
13.9.	0,52 ± 0,26 ^{ab}	1,63 ± 0,37 ^b	0,8 ± 0,2 ^a	0,7 ± 0,2 ^a
13.12.	1,62 ± 0,73 ^b	1,65 ± 0,72 ^b	1,4 ± 0,25 ^{ab}	1,6 ± 0,25 ^{ab}
13.3.	1,22 ± 0,66 ^b	1,27 ± 1,17 ^b	2,5 ± 0,3 ^b	3,5 ± 0,3 ^b
Výtěr 14.4.-5.5.2023	0,26 ± 0,13 ^a	0,21 ± 0,15 ^a	-	-
GSI * v případě období výtěru pseudo GSI				
Nasazení - 13.6.	0,2 ± 0,2 ^a	0,35 ± 0,12 ^a	0,2 ± 0,05 ^a	0,35 ± 0,1 ^a
13.9.	0,57 ± 0,28 ^b	1,69 ± 0,84 ^b	0,2 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,05 ^a
13.12.	1,35 ± 0,26 ^b	5,52 ± 1,72 ^c	0,2 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,05 ^a
13.3.	1,37 ± 0,43 ^b	12,12 ± 4,74 ^c	0,2 ± 0,05 ^a	0,35 ± 0,05 ^a
Výtěr 14.4.-5.5.2023	1,35 ± 0,33 ^{b*}	15,4 ± 1,65 ^{d*}	-	-

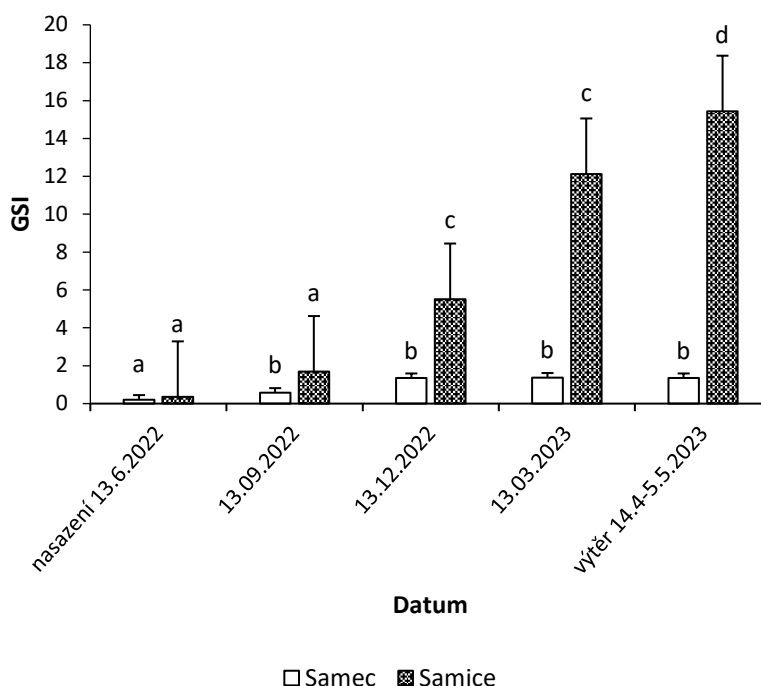
Vysvětlivky: Rozdílné indexy označují významný rozdíl mezi termíny vzorkování orgánů nebo tkání v rámci sloupce = daného chovu a pohlaví ($P < 0,05$). Tučně jsou zobrazeny statisticky nejvyšší hodnoty.



Obr. 3. Vývoj HSI u remontních samců a samic lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) chovaných v přírodním náhonu v průběhu 10měsíčního odchovu.



Obr. 4. Vývoj VSI u remontních samců a samic lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) chovaných v přírodním náhonu v průběhu 10měsíčního odchovu.



Obr. 5. Vývoj GSI u remontních samců a samic lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) chovaných v přírodním náhonu v průběhu 10měsíčního odchovu.

Naopak skupina remontních ryb, která byla odchovávaná v kontrolovaných podmínkách intenzivní akvakultury, nevykázala pozitivní vývoj a nárůst GSI směrem k výtěrovému období. Hodnoty GSI byly u samic a samců přibližně stejné a stabilní v průběhu celého odchovu až do období, kdy se začaly vytírat ryby chované v přirozeném náhonu (Tab. 15). To znamená, že remontní ryby chované v RAS podmínkách neprodělaly optimální gametogenezi a nedosáhly pohlavní zralosti a dospělosti. Tato skutečnost byla zapříčiněna vhodně zvoleným teplotně-světelným režimem, který neměl přirozený snižující se a opětovně zvyšující se trend (Obr.1 a 2). Ryby této skupiny však měly vyšší přežití na úrovni 90 %, kdy bylo odchováno 810 ks stále remontní ryb vykazující vyšší růst: SGR 0,23–0,26 %·d⁻¹; TL= 345,5–350,0 mm a W = 265,9–273,5 g (Tab. 15) a současně i vyšší míru ztučnění odchovaných ryb s konečným VSI na úrovni 2,5–3,5 (Tab. 16) .

8.3 Závěr

V rámci této části chovu byla potvrzena možnost úspěšného odchovu remontních ryb lipana podhorního kombinací intenzivní a přírodní akvakultury s cílem úspěšně dosáhnout mladých generačních ryb připravených na výtěr. Produkce mladých generačních ryb lipana podhorního intenzivní akvakulturou nebyla úspěšná. Tato produkce musí být ještě dále optimalizována, bude-li v budoucnu potenciální zájem ji využívat. Ovšem tento způsob chovu je spojený s vysokými produkčními náklady oproti chovu generačních ryb v přírodních podmínkách s případným dočištěním vody.



9 Výtěr odchovaných mladých generačních ryb z přírodního náhonu a vyhodnocení jejich první reprodukce v průběhu výtěrového období

9.1 Materiál a metodika

U skupiny mladých generačních ryb lipana podhorního (TL= 302,1–305,6 mm; W= 237,9 – 241,1 g) získaných z přírodního náhonu, který poskytoval rybám přirozené tepelné a světelné podmínky prostředí (Obr. 6 a 7), došlo od 14.4. 2023 k prvnímu termínu výtěru. Výtěr byl realizován tak, že bylo postupně kontrolováno 765 ks odchovaných ryb, které byly tříděny na čtyři kategorie ryb: první kategorií byly samice ovulující jikry, druhou kategorií byly ryby s plnou břišní partií těla označené jako potencionálně připravené samice k dalším termínům výtěru, třetí kategorií byly samci spontánně uvolňující sperma a čtvrtou kategorií byly ryby potencionálně nepřipravené na reprodukci. Tyto jednotlivé kategorie ryb byly následně v průběhu výtěrového období drženy izolovaně v různých sekcích používaného přírodního náhonu s dočištěním proudící přítokové a odtokové vody. První kategorie čítající 14.4.2023 37 ks ovulujících jikernaček byly uměle vytřeny, tak že ryby byly znehybněny anestetickým roztokem MS 222 (0,8 g.l⁻¹) a postupně každá ryba byla osušena a vytřena do sítka s cílem zbavit se ovariální tekutiny. Následně získané jikry byly přeneseny do suché předem zvážené misky a byla zjištěna hmotnost snůšky získaných jiker. Výtěry jednotlivých jikernaček byly takto postupně opakovány až do plného výtěru všech ovulujících ryb. Následně byly z jednotlivých snůšek jiker odebrány 3 dílčí vzorky jiker na předem zvážené Petriho misky o hmotnosti 0,5–0,8 gramů jiker. U takovýchto vzorků jiker byly jednotlivé jikry spočítány a vyfoceny. Z počtu jiker ve vzorku a hmotnosti vzorku byla vypočítána průměrná hmotnost jedné jikry a počet jiker na jeden gram snůšky. Z nafocených vzorků jiker (pomocí digitálního fotoaparátu Canon-72) byla pomocí software Quick PHOTO MICRO 3 zjištěna průměrná velikost (průměr) získaných jiker. V průběhu této procedury byly všechny získané individuální snůšky jiker od vytřených samic krátkodobě skladovány v suchých miskách přikryté vlhkým hadrem při teplotě 5-8 °C. Následně došlo k postupnému oplozování jednotlivých snůšek tak, že každá snůška byla oplozena předem odebraným spermatem od dvou – tří znehybněných a osušených mlíčáků v dávce 2-3 ml spermatu na cca 25–40 gramů jiker. Po smíchání jiker se spermatem došlo k oplození jiker přilitím vody z náhonu v dvojnásobném objemu, než byla hmotnosti jiker ve snůšce. Po dvou minutách byly jikry několikrát propláchnuty čerstvou vodou z náhonu. Následně byly z oplozených jiker odebrány tři vzorky jiker po 100 ks, které byly nasazeny do tří experimentálních inkubátorů o délce 230 mm, šířce 100 mm a výšce 140 mm s podélnou přepážkou z perforovaného plechu ve výšce cca 60 mm od dna inkubátoru. Na tento plech byly nasazeny oplozené jikry. Inkubátory byly průtočné a umístěné v nízkém odchovném žlabu, který byl použit na začátku realizace tohoto projektu k odchovu larev a juvenilních ryb popsané v kapitole 4 této zprávy. Nízký žlab s inkubátory byl napojen na RAS a umístěn v línii Rybářství Nové Hrady s.r.o. Dva dny po oplození jiker byla vždy stanovena oplozenost jiker (Op v %) a následně po ukončené inkubaci cca po 190°d i líhnivost larev podle následujících vzorečků:

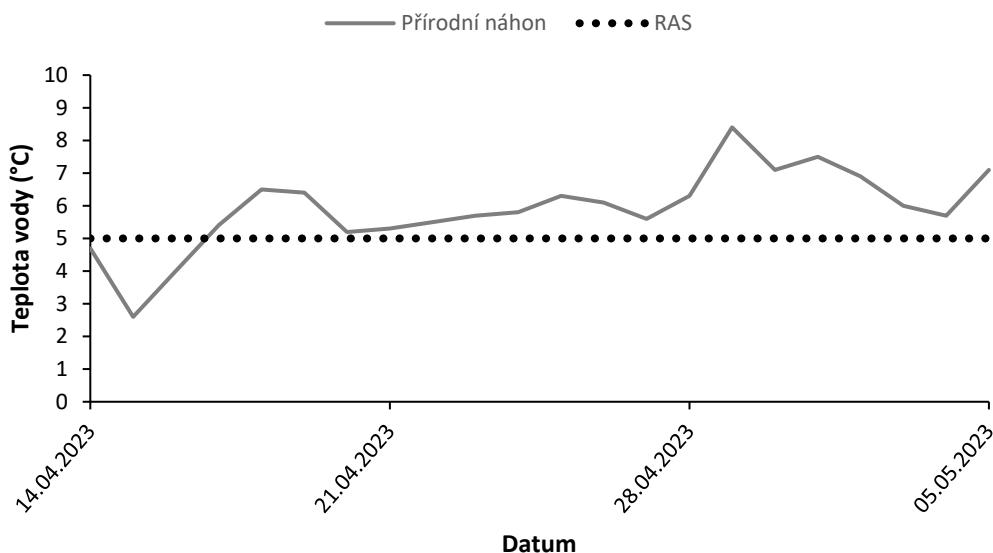
Oplozenost jiker: $Op = (\text{počet oplozených jiker} / \text{počet nasazených jiker}) \times 100 (\%)$;

Líhnivost larev: $LI = (\text{počet vylíhnutých larev} / \text{počet nasazených jiker}) \times 100 (\%)$.

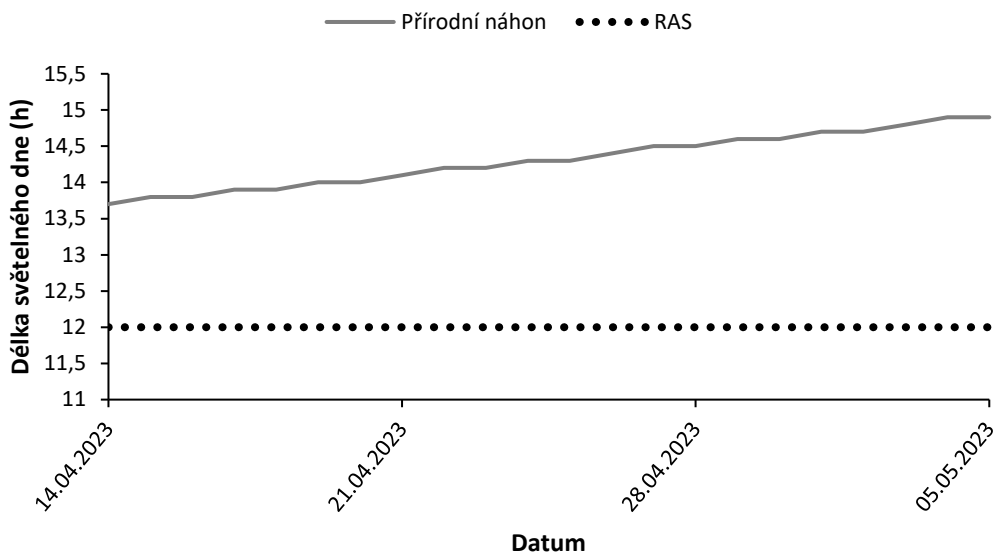
V rámci výtěrového období byly celkem realizovány 4 výtěry mladých generačních ryb, a to v termínech 14.4.2023; 21.4.2023; 28.4.2023 a 5.5.2023. U každého výtěru byly stanoveny následující parametry kvality reprodukce ryb: počet úspěšně vytřených samic a samců; absolutní



a relativní plodnost, průměrná velikost a hmotnost neoplozených jiker, míra oplozenosti jiker a líhnivosti larev.



Obr. 6. Průběh teploty vody během výtěrového období (14.04.2022–05.05.2023) u mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



Obr. 7. Délka světelného dne během výtěrového období (14.04.2022–05.05.2023) u mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



9.2 Výsledky

Získané parametry týkající se kvality reprodukce mladých generačních ryb v průběhu výtěrového období jsou sumarizované v Tab.17. Dohromady bylo za 4 termíny výtěru celkově úspěšně vytřeno 184 samic a 372 samců. Tyto vytřené jikernačky a mlíčáci tvořili 24,1 % a 48,6 % všech odchovaných ryb. Největší početnost vytřených samic i samců byla dosažena při druhém termínu výtěru 21.4.2023. U vytřených jikernaček byla zjištěna nižší absolutní a relativní plodnost od 1139,2 do 2501,5 jiker na vytřenou rybu, potažmo 4745,5–10 423,1 jiker na jeden kilogram živé hmotnosti vytřených samic. Nejvyšších hodnot, jak absolutní, tak relativní plodnosti bylo dosaženo opět ve druhém termínu výtěru mladých generačních ryb.

Po výtěru mladých jikernaček byly získané neoplozené jikry, které měly průměrnou velikost od 2,6 do 2,9 mm a průměrnou hmotnost 10,2 – 11,7 gramů, kdy největší jikry byly získány při prvním termínu výtěru (Tab. 17).

Míra oplozenosti jiker se pohybovala od 38,2 % do 63,7 %, kdy nejvyšší kvalita byla dosažena při prvním termínu výtěru a nejnižší při posledním termínu výtěru mladých generačních ryb. Míra líhnivosti larev se pohybovala od 25,3 do 48,1 % se stejným trendem jako u oplozenosti jiker.

Tab. 17. Hodnocení reprodukčních ukazatelů mladých generačních ryb remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) ve věku 22-23 měsíců v průběhu prvního výtěrového období.

Termín výtěru	14.4.2023	21.4.2023	28.4.2023	5.5.2023
Počet úspěšně vytřených samic (ks, kumulativní ks a procento ze všech ryb)	37 (4,8 %)	62 (99; 12,9 %)	58 (157; 20,5 %)	27 (184; 24,1 %)
Počet úspěšně vytřených samců (ks, kumulativní ks a procento ze všech ryb)	81 (10,5 %)	106 (187; 24,4 %)	104 (291; 38,0 %)	81 (372; 48,6 %)
Absolutní plodnost samic (ks.ks ⁻¹)	2112,9 ± 1145,5	2501,5 ± 1578,2	1856,7 ± 1159,2	1139,2 ± 859,2
Relativní plodnost samic (ks.kg ⁻¹)	8803,8 ± 4770,3	10423,1 ± 6575,5	7736,8 ± 4830,1	4745,5 ± 3580,0
Průměrná velikost neoplozených jiker (mm)	2,9±0,3	2,7±0,2	2,8±0,3	2,6±0,2
Průměrná hmotnost neoplozených jiker (mm)	11,7±0,7	10,5±0,8	11,1±0,7	10,2±0,6
Oplozenost jiker (%)	63,7±19,7	61,8±21,2	50,7±21,4	38,2±14,1
Líhnivost larev (%)	48,1±17,5	44,2±19,2	38,8±12,6	25,3±15,7

9.3. Závěr

V této části projektu bylo potvrzeno a ověřeno, že kombinací intenzivního a přírodního chovu je možné za 22–23 měsíců chovu získat kvalitní mladé generační ryby, které jsou schopné u samic z 24 % a u samců z 48 % prvního výtěru. Parametry tohoto prvního výtěru vykazují nižší absolutní a relativní plodnost ryb a nižší míru oplozenosti a líhnivosti larev, což je ale přirozené.



10 Závěr realizovaného projektu

Zrealizovaný inovační projekt CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001225 „Inovace v chovu larev, juvenilních, remontních, generačních ryb lipana podhorního“ úspěšně ověřil možnosti efektivního odchovu larev a juvenilních ryb vylepšenou exogenní výživou o vitamíny C, D3, E a přídavek přirozené potravy v podobě mražených patentek a udržováním optimálních podmínek intenzivního chovu využívající RAS technologii. U juvenilních ryb lipana ve věku 63 dní se v rámci dalšího 63denního odchovu osvědčilo krmení ryb peletovaným plovoucím krmivem Europa F15 od firmy Skretting. U starších 126denních ryb se v průběhu 84denního odchovu osvědčilo používat krmivo s obsahem bílkovin na úrovni 40 % a obsahem tuků na úrovni 20 %. Juvenilní ryby lipana podhorního ve věku 253 dní exogenní výživy je možné v rámci intenzivní akvakultury chovat při hustotě ryb od 3,55–38,1 kg.m⁻³ se zjištěním, že vysoká hustota snižuje růst odchovávaných ryb a konverzi živin. Naopak nízká hustota odchovávaných ryb odchov ekonomicky prodražuje. Za 22–23 měsíců chovu remontních ryb využívající kombinaci intenzivní akvakultury (do jednoho roku) a chov ryb v přirozeném náhonu (v průběhu druhého roku) je možné získat kvalitní mladé generační ryby, které jsou schopné z 24 % u samic a z 48 % u samců úspěšné reprodukce s nižšími parametry plodnosti jikernaček, oplozenosti jiker a líhnivosti larev. Z výsledků daného projektu je patrné že:

- 1) V rámci larválního a počátečního juvenilního odchovu je možné při využití obohaceného peletovaného krmiva Otohime o vitamíny C, D3 a E a o mražené patentky zvýšit míru přežití odchovávaných ryb lipana podhorního v intenzivní akvakultuře využívající RAS do věku 63 dní exogenní výživy. Zmíněný přístup v rámci intenzivního chovu lipana podhorního může zvýšit přežití až 2,6krát oproti konvenčnímu způsobu krmení a chovu larev a juvenilních ryb využívající peletované krmivo bez jakýchkoliv přísad a obohacení.
- 2) V průběhu dalšího 63denního intenzivního odchovu juvenilních ryb lipana podhorního v RAS podmínkách o kusové velikosti: TL = od 85 mm do 112,1–135,7 mm a hmotnosti W = od 4,95 gramů do 15,1–27,5 gramů bylo dosaženo vysokého přežití ryb na úrovni 86,5–89,5 %, vysoké rychlosti růstu (SGR = 2,6–2,7 %.d⁻¹), dobré konverze krmiva (FCR = 1,5–2,3 kg.kg⁻¹) a minimální míry tělesných deformit u juvenilních ryb krmených krmivem Otohime a Skretting. Obecně lze konstatovat, že intenzivní chov juvenilních ryb lipana podhorního v daných velikostech lze realizovat poměrně úspěšně bez větších technologických problémů, s poměrně zajímavou ekonomickou rentabilitou v případě, že jsou využívána levnější peletovaná umělá krmiva od firmy Skretting.
- 3) U starších 126denních juvenilních ryb se v průběhu 84denního odchovu osvědčilo používat krmivo s obsahem bílkovin na úrovni 40 % a 20 % obsahem tuků, kdy toto krmivo zajišťuje vysoký růst ryb, zvyšuje efektivitu krmiva a účinnost proteinů v krmné dávce. Současně zvýšení obsahu bílkovin v krmivu na 40% pro juvenilní ryby lipana podhorního vede ke zvýšení obsahu mastných kyselin: ARA, EPA a celkového obsahu n-6 LC-PUFA ve hřbetní svalovině daných odchovávaných ryb.
- 4) Juvenilní ryby lipana podhorního ve věku 253 dní exogenní výživy je možné v rámci intenzivní akvakultury chovat při hustotě ryb od 3,55–38,1 kg.m⁻³ s tím, že použitá vysoká hustota juvenilních ryb snižuje růst odchovávaných ryb a konverzi živin. Naopak nízká hustota



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

odchovávaných ryb odchov ekonomicky prodražuje. Z těchto důvodů je nutné mezi chovateli najít nějaký kompromis s cílem využívat produkčně optimální hustoty juvenilních ryb lipana podhorního při jejich odchovu.

5) V rámci následného ročního chovu remontních ryb v přirozených podmínkách prostředí náhonu je možné úspěšně a efektivně produkovat kvalitní mladé generační ryby ve věku 22–23 měsíců, které jsou připravené na výtěr. Naopak produkce mladých generačních ryb lipana podhorního intenzivní akvakulturou není prozatím úspěšná a musí být ještě dále optimalizována. Ovšem tento způsob chovu je spojený s vysokými produkčními náklady oproti chovu generačních ryb v přírodních podmínkách náhonu s případným dočištěním vody.

6) Za 22–23 měsíců chovu využívající kombinaci intenzivní akvakultury (do jednoho roku) a chov ryb v přirozeném náhonu (v průběhu druhého roku) je možné získat kvalitní mladé generační ryby, které jsou schopné z 24 % u samic a 48 % u samců úspěšné reprodukce s nižšími parametry plodnosti jikernaček, oplozenosti jiker a líhnivosti larev.



11 Seznam fotodokumentace

Obr.1. Nízké odchovné žlaby na FROV JU využívané k intenzivnímu odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).

Obr. 2. Nízké odchovné žlaby na Rybářství Nové Hradky s.r.o. používané k intenzivnímu odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).

Obr. 3. Odchovné nádrže o objemu 380 litrů, kde probíhaly experimenty týkající se optimalizace intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) na obou pracovištích (FROV JU a Rybářství Nové Hradky s.r.o.).

Obr. 4. Detail odchovné nádrže s odchovávanými juvenilními rybami lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).

Obr. 5. Juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) odchovaný v podmínkách intenzivní akvakultury využívající RAS technologii při optimalizaci výživy při larválním a juvenilním odchovu.

Obr. 6. Odchovaný deformovaný juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) na konci intenzivního odchovu (140. den exogenní výživy) využívající RAS technologii a krmení umělým peletovaným krmivem od firmy Biomar.

Obr. 7. Odchovaný deformovaný juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) na konci intenzivního odchovu (140. den exogenní výživy) využívající RAS technologii a krmení umělým peletovaným krmivem od firmy Skretting.

Obr. 8. Odběr krve od juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) při experimentu optimalizující nutriční složení umělých krmiv pro jejich intenzivní chov v RAS.

Obr. 9. Manipulace s experimentálními juvenilními lipany podhorními (*Thymallus thymallus*) při experimentu testující hustotu obsádky ryb.

Obr. 10. Odchov remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách intenzivního chovu využívající RAS technologii.

Obr. 11. Odchov remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách přírodního náhonu v období kontroly jejich růstu.

Obr. 12. Pitva ryb, odběr orgánů a vzorků s cílem popsat vývoj odchovávaných remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách přírodního náhonu.

Obr. 13. Odchov a získání mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) z podmínek přírodního náhonu, které byly připraveny na výtěr.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Obr. 14. Vážení individuální hmotnosti u mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) před jejich výtěrem.

Obr. 15. Umělý výtěr mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).

Obr. 16. Experimentální inkubace oplozených jiker získaných od mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) s cílem zjistit oplozenost jiker a líhivost larev.



Obr.1. Nízké odchovné žlaby na FROV JU využívané k intenzivnímu odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



Obr. 2. Nízké odchovné žlaby na Rybářství Nové Hradky s.r.o. používané k intenzivnímu odchovu larev a juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



Obr. 3. Odchovné nádrže o objemu 380 litrů, kde probíhaly experimenty týkající se optimalizace intenzivního chovu juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) na obou pracovištích (FROV JU a Rybářství Nové Hradky s.r.o.).





EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Obr. 4. Detail odchovné nádrže s odchovávanými juvenilními rybami lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



Obr. 5. Juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) odchovaný v podmínkách intenzivní akvakultury využívající RAS technologii při optimalizaci výživy při larválním a juvenilním odchovu.





Obr. 6. Odchovaný deformovaný juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) na konci intenzivního odchovu (140. den exogenní výživy) využívající RAS technologii a krmení umělým peletovaným krmivem od firmy Biomar.



Obr. 7. Odchovaný deformovaný juvenilní lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) na konci intenzivního odchovu (140. den exogenní výživy) využívající RAS technologii a krmení umělým peletovaným krmivem od firmy Skretting.



Obr. 8. Odběr krve od juvenilních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) při experimentu optimalizující nutriční složení umělých krmiv pro jejich intenzivní chov v RAS.



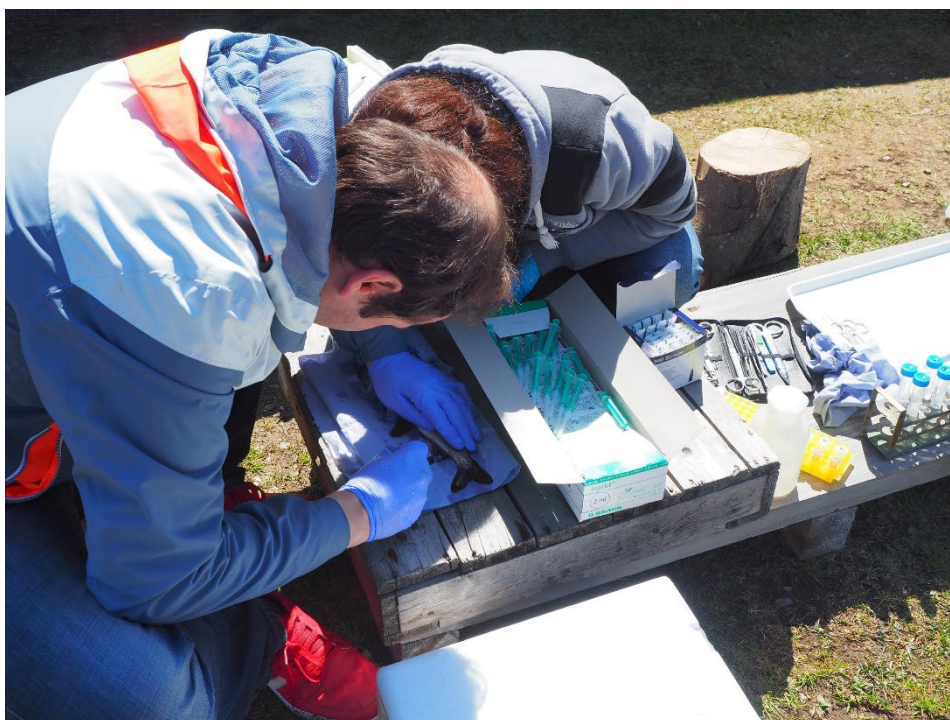
Obr. 9. Manipulace s experimentálními juvenilními lipany podhorními (*Thymallus thymallus*) při experimentu testující hustotu obsádky ryb.



Obr. 10. Odchov remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách intenzivního chovu využívající RAS technologii.



Obr. 11. Odchov remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách přírodního náhonu v období kontroly jejich růstu.



Obr. 12. Pitva ryb, odběr orgánů a vzorků s cílem popsat vývoj odchovávaných remontních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v podmínkách přírodního náhonu.



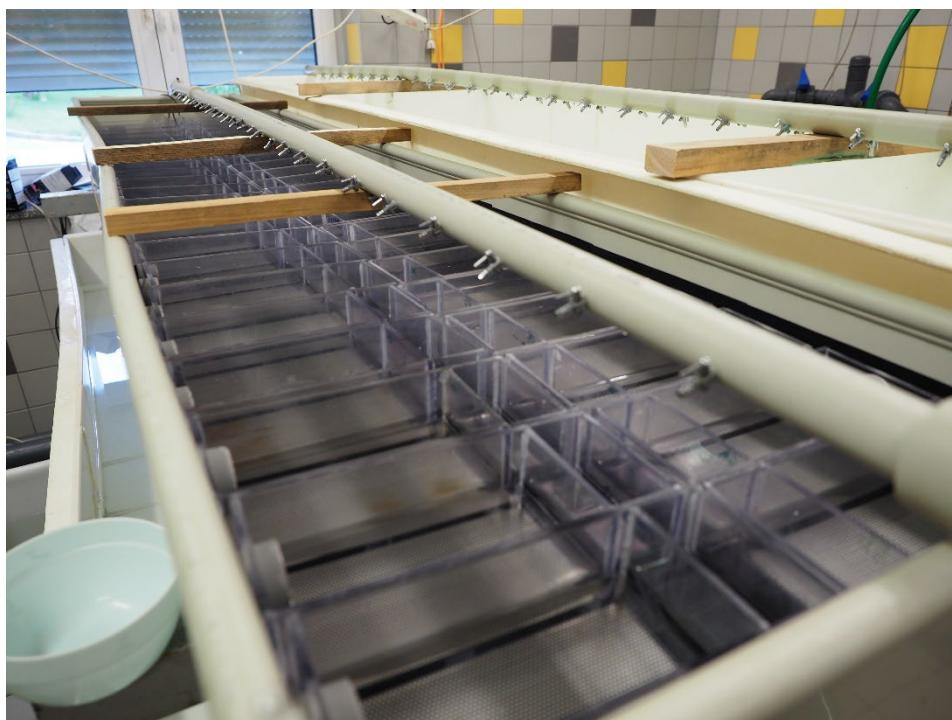
Obr. 13. Odchov a získání mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) z podmínek přírodního náhonu, které byly připraveny na výtěr.



Obr. 14. Vážení individuální hmotnosti u mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) před jejich výtěrem.



Obr. 15. Umělý výtěr mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*).



Obr. 16. Experimentální inkubace oplozených jiker získaných od mladých generačních ryb lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) s cílem zjistit oplozenost jiker a líhnivost larev.