

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DISERTAČNÍ PRÁCE

BRNO 2015

ŠTĚPÁN LANG

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav Zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství



Disertační práce

Vedoucí práce:
doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D.

Vypracoval:
Ing. Štěpán Lang

Brno 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Modulace fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech lososovitých ryb** vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

Tímto bych chtěl poděkovat mému školiteli doc. Ing. Radovanu Koppovi, Ph.D. a školiteli specialistovi prof. Dr. Ing. Janu Marešovi za odborné vedení a cenné rady při zpracování mé disertační práce.

Velké poděkování patří všem zaměstnancům Oddělení rybnářství a hydrobiologie Mendelovy univerzity v Brně, dále Ing. Tomáši Brabcovi, Ph.D. a za pomoc při odběru vzorků a jejich zpracování, ale i všem doktorandům a studentům ORH MENDELU. Také bych rád poděkoval pracovníkům Ústavu chorob ryb a včel na VFU a jejich doktorandům za veterinární dohled a pomoc při odběrech a zpracování vzorků krve ryb. Rád bych také poděkoval firmě Biofish s.r.o. a Kinský Žďár a.s. za ochotu a poskytnutí cenných dat a informací.

Velké poděkování patří mé rodině za podporu během mého studia.

Zpracovaná doktorská disertační práce byla finančně podpořena z prostředků projektů NAZV: *Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče* (QJ1210013) a *Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb* (QI91C001).

ABSTRACT

Almost everything in the water is influenced by physico-chemical parameters of the environment. This is much more evident in intensive fish culture where water works as the medium which brings oxygen and washes out fish metabolism wastes. The aim of this work was to evaluate the effect of physico-chemical parameters of water on fish performance and the function of intensive rearing systems. As we were working on this evaluation we found, that the most important thing is to keep the physico-chemical parameters as stable as it is possible. Improving these parameters is much more cost effective in water recirculating systems (RAS) than in flow thru systems (FTS). When the rearing system is RAS, the most important part of the system to take care of is the biological filter and its performance. The filter is even more sensitive to fast changes of some physico-chemical parameters than fish. The quality of water in intensive fish rearing system is highly reliable on the system composition and its management with great aim to feed used in the system. Bad management can cause fatal damage to fish stock in a few days and in case of RAS it can be only matter of hours. The climatic conditions of Czech Republic do not allow an economic use of RAS in the open field. Whet the RAS should be economically viable it have to be covered and insulated.

Obsah

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Úvod..... | 9 |
| 2 | Cíl práce | 12 |
| 3 | Literární přehled..... | 13 |
| 3.1 | Teplota | 13 |
| 3.2 | Obsah kyslíku..... | 14 |
| 3.3 | pH..... | 16 |
| 3.4 | Neutralizační kapacita vody..... | 17 |
| 3.5 | Světlo | 18 |
| 3.6 | Dusíkaté látky | 18 |
| 3.7 | Organické látky | 25 |
| 3.8 | Bakteriální oživení biologického filtru | 27 |
| 3.9 | Složení krve ryb v závislosti na fyzikálně-chemických parametrech vody..... | 29 |
| 4 | Materiál a metodika | 30 |
| 4.1 | Recirkulační systémy Dánského typu..... | 31 |
| 4.1.1 | Biologický filtr..... | 32 |
| 4.2 | Měření fyzikálně chemických parametrů..... | 35 |
| 4.3 | Stabilizace pH (alkalita = KNK) v intenzivním recirkulačním systému | 36 |
| 4.4 | Snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému | 36 |
| 4.5 | Dlouhodobá kontinuální sledování | 37 |
| 4.5.1 | 24h a delší sledování fyzikálně-chemických parametrů | 37 |
| 4.5.2 | Sedimentace | 38 |
| 4.5.3 | Průběžná sledování změn fyzikálně-chemických parametrů během roku | 39 |
| 4.6 | Zkoumání vlivu fyzikálně-chemických vlivů na složení krve pstruha duhového (<i>O.mykiss</i>) | 39 |
| 4.7 | Ovlivnění funkce a záběhu biologického filtru..... | 40 |
| 4.7.1 | Přidaná filtrace | 40 |
| 4.7.2 | Pilotní studie | 40 |
| 4.7.3 | Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu..... | 42 |
| 5 | Výsledky | 42 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.1 | Stabilizace pH (alkalita = KNK) v intenzivním recirkulačním systému | 42 |
| 5.2 | Snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému | 44 |
| 5.3 | Dlouhodobá kontinuální sledování fyzikálně chemických parametrů, sedimentace a produkce výkalů rybami..... | 44 |
| 5.3.1 | Změny fyzikálně-chemických parametrů během 24 hodin..... | 44 |
| 5.3.2 | Průběžné sledování fyzikálně-chemických parametrů během roku | 45 |
| 5.3.3 | Sedimentace | 47 |
| 5.4 | Zkoumání vlivu fyzikálně-chemických parametrů na hodnoty vybraných parametrů krve pstruha duhového..... | 48 |
| 5.5 | Ovlivnění funkce a záchytu biologického filtru..... | 48 |
| 5.5.1 | Přidaná filtrace | 48 |
| 5.5.2 | Pilotní pokus | 49 |
| 5.5.3 | Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu..... | 50 |
| 6 | Diskuse..... | 52 |
| 6.1 | Stabilizace pH = Alkalita..... | 52 |
| 6.2 | Snížení toxicity dusitanů..... | 53 |
| 6.3 | Dlouhodobá kontinuální sledování fyzikálně chemických parametrů, sedimentace a produkce výkalů rybami..... | 53 |
| 6.3.1 | 24h a delší sledování změn obsahu dusíkatých látek v RAS dánského typu | 53 |
| 6.3.2 | Průběžné sledování během fyzikálně chemických parametrů v RAS dánského typu během roku | 54 |
| 6.3.3 | Sedimentace | 55 |
| 6.4 | Vliv fyzikálně-chemických parametrů na složení krve pstruha duhového (<i>O.mykiss</i>) | 56 |
| 6.5 | Funkce biofiltru..... | 56 |
| 6.5.1 | Přidaná filtrace | 56 |
| 6.5.2 | Pilotní pokus | 57 |
| 6.5.3 | Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu..... | 57 |
| 7 | ZÁVĚR | 58 |
| 8 | Literatura..... | 62 |

| | |
|---------------------------|----|
| 8.1 Online zdroje:..... | 62 |
| 8.2 Literární zdroje..... | 62 |
| 9 Seznam obrázků | 77 |
| 10 Seznam tabulek | 77 |
| 11 Přílohy..... | 78 |

1 ÚVOD

Veškeré dění ve vodním prostředí je ovlivněno jeho fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Život vodních organismů, nehledě na to, zda se jedná o bakterie, červy, členovce, ryby, rostliny a další je na fyzikálně-chemických vlastnostech vody přímo závislý a i vodní organismy samotné ovlivňují prostředí, ve kterém žijí. Ryby a ostatní vodní živočichové, včetně bakterií z prostředí odebírají kyslík potřebný pro jejich dýchání a naopak do vody vypouštějí odpadní látky metabolismu jako oxid uhličitý, amoniak, výkaly a další. Rostliny při fotosyntéze z vody odebírají oxid uhličitý a další živiny a obohacují ji o kyslík. Veškeré tyto procesy jsou v přírodních podmínkách navíc ovlivněny interakcemi a výměnou látek mezi vodou a dnem a vodou a vzduchem. To dává přírodním nádržím značnou výhodu zvýšené stability prostředí. Intenzivní chovy ryb jsou o tuto interakci s prostředím povětšinou ochuzeny, neboť je většina takovýchto chovů uzavřena do nádrží vytvořených z betonu, kovu či plastů. Intenzivní chovy ryb lze z hlediska využití vody a potažmo i jejich kontaktu s okolním prostředím rozdělit na dvě skupiny. Jednou jsou systémy průtočné a druhou systémy s různou měrou obměny vody využívající technologii recirkulace vody a její čištění pomocí biologických filtrů. Systémy průtočné zahrnují dvě hlavní skupiny a to chovy ryb v rybníčcích a chovy ryb v umělých nádržích vyrobených z různých materiálů. Odchovné nádrže v systémech s využitím recirkulace i průtočných systémech mohou mít různé tvary, od různě dlouhých žlabů, přes obdélníky, ovály a čtverce až po nádrže kruhové. Provedení okrajů, stěn nádrží záleží hlavně na místních podmínkách a to hlavně u systémů průtočných, u kterých hrozí v zimním období jejich zamrzání. Většinou jsou okraje nádrží kolmé, ale u systémů, které mohou zamrznout, se používají stěny zkosené pod úhlem 45°, viz farma Anín a Skalní Mlýn. Dále se zaměříme na chov lososovitých ryb. Systémy průtočné jsou přímo závislé na celoročním vydatném zdroji kvalitní vody a intenzita odchovu ryb v nich se pohybuje kolem 30 kg.m⁻³ konečné hmotnosti obsádky ryb v rybníčcích, 50 kg.m⁻³ v intenzivních chovech. Navíc ze systémů odtéká prakticky veškeré znečištění, i když výrazně zředěné, do recipientu. To dané systémy výrazně limituje hlavně v produkci a také v jejich dalším budování nejen na území České republiky. V porovnání s legislativou České republiky, která při dostatečném zředění povoluje vypouštění prakticky jakéhokoliv množství jakýchkoliv látek do recipientu, legislativa například Dánska striktně limituje množství vypouštěných odpadních látek a hlavně živin do recipientů. Rybochovná zařízení jsou v Dánsku limitována možností

zvýšení obsahu živin v recipientu oproti množství živin v toku nad výtokem z farmy. Tato skutečnost nutí místní chovatele, pokud chtějí zvýšit svou produkci ryb, ke zdokonalování technologií chovu a čištění odpadních vod ze systémů vytékajících. Chovatel je limitován množstvím krmiva, které může za rok nakoupit a pokud dokáže, že do recipientu vypouští méně znečištěnou vodu, respektive menší množství živin, než má povoleno, je mu tento limit navýšen.

Celosvětová produkce ryb pro intenzivně narůstající lidskou populaci dlouhodobě meziročně roste. Zvýšená potřeba ryb je saturována především akvakulturním chovem, který se podílí na celkové produkci ryb pro lidský konzum z více než 45%. Snaha o vyšší efektivitu produkce a minimalizaci vstupů vede k dynamickému rozvoji zejména v oblasti intenzivních chovů ryb. Produkce ryb z akvakultury se od roku 2012 do roku 2013 celosvětově zvýšila z 66,6 milionů tun na 70,5 milionu tun a z toho 2/3 jsou ze sladkovodní akvakultury. Stále se zvyšující ekologické nároky na vypouštění odpadních látek do životního prostředí a prohlubující se nedostatek kvalitní vody tlačí celosvětově chovatele ryb k budování recirkulačních systémů. Produkce ryb z recirkulačních systémů se celosvětově každoročně rozvíjí. Recirkulační systémy mohou snížit potřebu vody pro odchov ryb až 100x.

Z důvodu omezení kontaktu intenzivních chovných systémů s přirozeně utvářeným dnem, jsou tyto systémy fyzikálně i chemicky mnohem méně stabilní a proto je v nich potřeba věnovat zvýšenou pozornost kontrole a popřípadě úpravě fyzikálně-chemických parametrů vody. U průtočných systémů je úprava vody poměrně finančně náročnější, než u systémů recirkulačních, protože upravená voda je vypouštěna do recipientu. V tomto případě je využíváno povětšinou jen úpravy pH přitékající vody a to hlavně jeho zvýšení, neboť většina průtočných systémů pro chov lososovitých ryb je vybudována ve vyšších polohách a zdroje vody pro tyto farmy bývají díky tání sněhu a výluhům huminových kyselin z lesů a rašelinišť kyselé. Reakce vody nabývá i pH pod 4,5, což je hodnota nevhodná pro chov ryb. Pokles pH bývá navíc poměrně rychlý, ryby si na nižší pH nemohou navyknout, což při zanedbání úpravy pH znamená často podstatné ztráty vlivem přímého úhynu ryb i sníženého příjmu potravy rybami v důsledku poškození žaber a biochemické disbalance organismu. Průtočné systémy, na rozdíl od recirkulačních, nemívají problémy s otravami ryb dusitany, neboť v nich většinou neprobíhá intenzivní nitrifikace, respektive nitritace, jako u systémů recirkulačních. Recirkulační akvakulturní systémy (RAS) umožňují zvýšit intenzitu chovu lososovitých ryb až na úroveň 120, potažmo 150 kg, ryb v 1 m³ objemu

odchovné části systému. Skládají se vždy z části odchovné, části pro úpravu kvality vody a rozvodů. Odchovnou část tvoří nádrže ve tvaru žlabu, kruhu (mnohoúhelníku), oválu nebo čtverce se zaoblenými rohy o různé hloubce. Konstrukce části pro úpravu vody se následně liší podle použité technologie a míry vybavenosti každé farmy. Pravidlem je, že čím složitější a vybavenější je část farmy pro úpravu vody, tím menší je spotřeba vody farmou na odchov v porovnání s hmotností produkce ryb. RAS jsou vždy náročnější na kvalifikovanost a disciplínu obsluhy, než systémy průtočné. Každá chyba, nebo zanedbání jakéhokoliv úkonu v denní rutině péče o RAS znamená okamžitou odezvu v podobě zhoršení kvality vody až úhynu ryb. Recirkulační systémy jsou díky vysoké intenzitě chovu ryb a jejich absolutnímu oddělení od přírodních podmínek extrémně závislé na kvalitě péče o ně. Změny chemických parametrů v nich probíhají v řádech desítek minut. Z tohoto důvodu se nadále budeme věnovat hlavně chovu lososovitých ryb v recirkulačních systémech.

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo analyzovat vybrané vlivy jednotlivých fyzikálně chemických parametrů na lososovité ryby a biologické filtry recirkulačních systémů v intenzivních chovech a navrhnout možnosti jejich úpravy a možnosti zlepšení jejich parametrů a metody omezení jejich negativního působení.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Teplota

Teplota je fyzikálním faktorem, který v intenzivních chovech lososovitých ryb kolísá poměrně pomalu. Její stabilita je ovlivněna především teplotou a množstvím přítokové vody, teplotou a množstvím vzduchu do systému vháněného a zastíněním systému proti slunečnímu svitu. Je jedním z fyzikálních faktorů nejvíce ovlivňujících dění ve vodě. Většina organismů žijících ve vodě má stejnou, nebo jen mírně odlišnou teplotu jako voda, v níž se vyskytují. Teplota proto ovlivňuje veškeré chemické i fyzikální pochody a reakce jak v samotném prostředí, tak v tělech a buňkách organismů ve vodě se vyskytujících.

Vztahem teploty vody na rychlosti růstu pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) se zabývaly Australské studie. Ze studií vyplývá, že pstruh duhový (*O. mykiss*) roste nejlépe ve chladnější vodě (5°C až 20°C) než ve vodách o teplotě blízké horní a spodní letální hranici. Letální hranice teploty vody pro lososovité ryby je však ovlivněna mnoha faktory. Bidgood (1980) uvádí jako letální teplotu pro pstruha duhového (*O. mykiss*) 25 - 26 °C, Rodgers a Griffiths (1983) určili za letální teplotu 29 °C. Ojolick a kol. (1995) a Benfey (1996) zjistili u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*, Mitchill, 1814) v závislosti na věku a pohlaví ryb letální teplotu 29,8 °C. Benfey (1996) uvádí, že pro samice je vyšší průměrná letální teplota než pro samce a mladší ryby lépe přežívaly vyšší teploty než starší.

Jirásek a kol. (1977) zjistili, že průměrná spotřeba O₂ se u hladového plůdku pohybovala v závislosti na teplotě vody od 106,8 do 403,5 mg.g.h⁻¹. Ve všech případech spotřeboval menší plůdek podstatně více O₂ na jednotku hmotnosti než plůdek větších rozměrů. Tzv. normální spotřeba kyslíku u hladovějícího plůdku byla u menších ryb vyšší, což charakterizuje i jeho intenzivnější metabolismus v porovnání s většími rybami. Jirásek a kol. (1977) zkoumali spotřebu kyslíku u plůdku kapra, ale prakticky stejné zákonitosti změn spotřeby kyslíku s velikostí ryb platí i pro ryby lososovité.

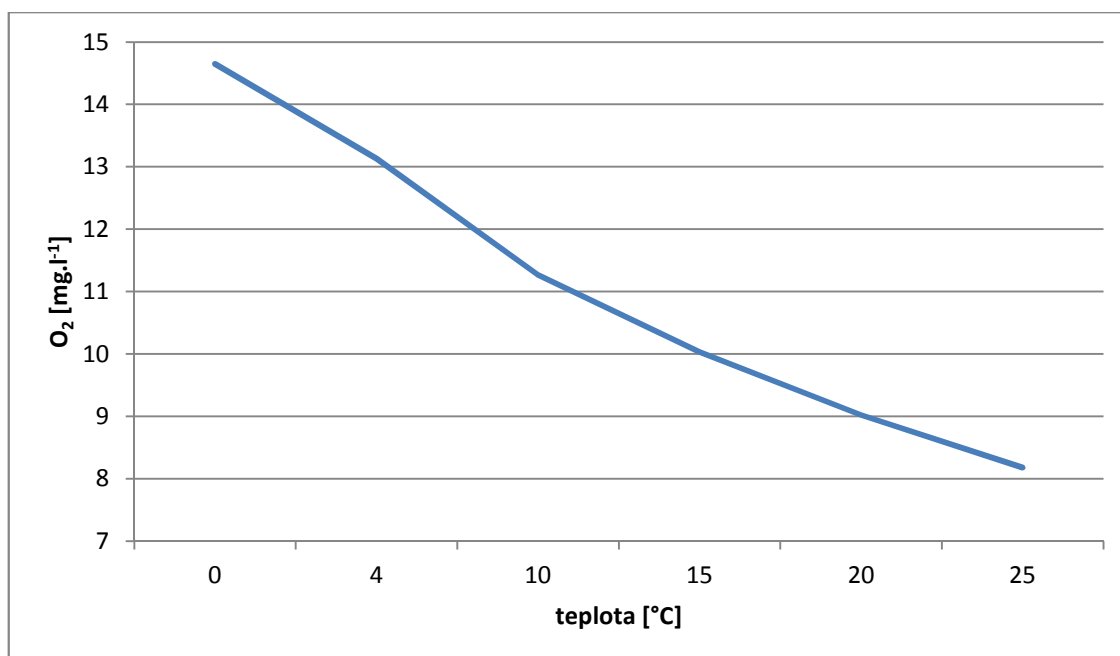
3.2 Obsah kyslíku

Kyslík, je základním kamenem aerobního získávání energie u všech aerobně žijících organismů na Zemi, ať už žijících na souši, nebo ve vodě. Pro aerobní organismy je limitujícím faktorem přežití. Za pomoci Krebsova cyklu a jeho různých modifikací organismy váží energii vzniklou oxidací rozličných látek do chemických vazeb. energii chemických vazeb poté využívají na nejrůznější pochody spojené s jejich metabolismem, jako syntéza nukleových kyselin, bílkovin a enzymů potřebných k jejich přežití a množení, vylučování odpadních látek metabolismu či pohyb.

Obsah kyslíku je limitujícím faktorem obzvláště v interakci s ostatními faktory např. s krmáním. Dle Pokorného a kol. (1998) je v recirkulačních odchovných zařízeních pro chov lososovitých ryb nebezpečný pokles obsahu kyslíku po předešlém silném nakrmení ryb. Pro pstruha duhového (*O. mykiss*) je limitující hranice obsahu O_2 pro přežití u nakrmených ryb 5 mg.l^{-1} , u nenakrmených ryb $3,5 \text{ mg.l}^{-1}$. K dokonalému využití krmiva a k zajištění maximálních přírůstků nemá obsah O_2 klesat pod 7 mg.l^{-1} . Při obsahu O_2 menším než 3 mg.l^{-1} pozorovali Svobodová a kol. (1987) příznaky dušení u lososovitých ryb. Heteša a Kočková (1997) uvádí jako kritickou hodnotu obsahu kyslíku pro lososovité ryby v letních měsících $5,0 - 5,5 \text{ mg.l}^{-1}$, při $4,0 \text{ mg.l}^{-1}$ obtížně dýchají a při $1,0 - 2,0 \text{ mg.l}^{-1}$ hynou. Lucký (1986) uvádí horní kritickou hodnotu nasycení vody kyslíkem pro ryby 250 - 300 %. To přibližně koresponduje se zjištěním Pokorného a kol (1998). Ti zjistili, že zvýšený obsah rozpuštěného O_2 ve vodě rybám neškodí, pokud nepřekročí hranici 35 mg.l^{-1} . Espmark a kol. (2010) zjistili při čtrnáctidenní expozici lososů (*Salmo salar*, L., 1758) zvýšenému nasycení vody kyslíkem (160 %) první výskyt plynových embolií na žábrech a pod pokožkou ploutví. Z toho se dá usuzovat na nevhodnost dlouhodobého udržování výrazného přesycení kyslíkem v nádržích pro chov lososovitých ryb. Důležitými faktory pro rozpouštění O_2 ve vodě jsou atmosférický tlak, nadmořská výška a vývoj počasí (Hartman a kol. 1998). Závislost obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě na teplotě vody a tlaku udává tabulka 1. Graf vlivu teploty vody na obsah kyslíku rozpuštěného ve vodě při konstantním tlaku zobrazuje obrázek 1. Jak uvádí Čítek a kol. (1998), je množství O_2 rozpuštěného ve vodě ovlivňováno teplotou vody, organickým znečištěním, přítomností rostlin ve vodě a dalšími činiteli. Nedostatek kyslíku rozpuštěného ve vodě má za následek zpomalení životních pochodů ryb. Projevuje se příznaky dušení, poruchami zdravotního stavu a později smrtí.

Tabulka 1: *Vliv teploty vody a tlaku na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě* (Hartman a kol. 1998; upraveno).

| Teplota [°C] | 101,3 kPa (0 m. n . m.) | 95,2 kPa (500 m. n. m.) |
|--------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | 14,65 | 13,81 |
| 4 | 13,13 | 12,32 |
| 10 | 11,27 | 10,70 |
| 15 | 10,03 | 9,41 |
| 20 | 9,02 | 8,78 |
| 25 | 8,18 | 7,70 |



Obrázek 1. *Vliv teploty vody na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě při konstantním tlaku.*

Koncentrace O₂ ve vodě podmiňuje a často komplikuje průběh onemocnění vyvolaných různými činiteli. Při intenzivním krmení ryb rychle roste spotřeba kyslíku a je nebezpečí nežádoucích stresů. Koncentrac O₂ ve vodě významným faktorem ovlivňujícím toxicitu látek pro ryby. Příznaky deficitu kyslíku jsou běžně popisovány jako dušení, nepřijímání potravy, pohyb ryb pod hladinou, nouzové dýchání, shromažďování u přítoku, malátnost, nereagování na podráždění, ztráta únikového reflexu a smrt. Z patologickoanatomických změn je nápadná výrazně světlá barva kůže, žábry jsou překrvené a cyanotické. Aquaculture Dictionary (cit. [1]) zdůrazňuje vliv

nízkého obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě na vznik stresových reakcí u ryb a snížení prahových hodnot dalších stresových faktorů v důsledku kumulativního účinku stresu.

3.3 pH

Záporný dekadický logaritmus počítaný z koncentrace oxoniových iontů ve vodě. Je výsledkem disociace kyselin, zásad a jejich solí ve vodě. Reakce vody je úzce spjatá s mnohými pochody ve vodě a ovlivňuje tím i organismy v ní žijící. Hodnota pH například, s přispěním teploty vody, přímo určuje podíl toxického amoniaku z celkového obsahu amonných iontů ve vodě. Dále pH ovlivňuje intenzitu růstu a metabolismu bakterií, které jsou pro správnou funkci recirkulačních systémů nezbytné, nitrifikačních bakterií. Optimální pH pro funkci nitrifikačních bakterií je mezi hodnotami 6,8 – 8 (Bregnballe 2010). pH klesající pod hodnotu 7 výrazně snižuje intenzitu metabolismu nitrifikačních bakterií. Rychlý pokles pH, nebo pokles pH k hodnotám pod 5,0 může způsobit indukci replikace genů bakteriofágů přirozeně se vyskytujících v DNA nitritačních bakterií a jejich kompletní úhyn do 5 hodin od působení tohoto stresového faktoru (Choi a kol. 2010). Ryby tolerují poměrně široký rozsah pH. Jsou schopny žít v pH od 4,0 do 11,0, přičemž obecně platí, že teplomilné ryby mají optima rozsahu pH posazená na stupnici pH výše a ryby lososovité (studenomilné) lépe tolerují nižší pH. Jako nebezpečné pro ryby udávají Wurts a Durborow (1992) hodnoty pH vody pod 5 a nad 10. Prudké výkyvy pH ryby poškozují a mohou vést až k jejich udušení v důsledku nadměrné produkce hlenu, jako obranné reakce na změnu pH. Při pozvolné změně pH se ryby jsou schopné do jisté míry adaptovat. Například lín obecný (*Tinca tinca*, L., 1758) je schopen bez větších problémů žít a prosperovat při pH vody 4,4 (pozorováno na oddělení rybářství a hydrobiologie Mendelovy univerzity v Brně – nepublikováno). Pokles pH pod 5 také vyplavuje z půd hliník, který je pro lososovité ryby toxický (Andrén a Rydin 2012, Wilson 2011, Poléo 1995). Vliv působení extrémních hodnot pH vodního prostředí na ryby shrnují Svobodová a kol. (1987) a www.fishdoc.co.uk (cit. [6]). Při extrémních hodnotách pH pozorují poškození tkání ryb, zejména kůže, žáber a očí. Organismus se proti tomuto působení brání zvýšeným vylučováním hlenu na kůži a na vnitřní straně skřelí. Hodnotu pH shledávají významnou i proto, že výrazně ovlivňuje toxicitu celé řady látek. Největší ovlivnění je zřejmé u amoniaku a amonných solí, kdy s rostoucí hodnotou pH vody velmi silně roste podíl toxického amoniaku ve vodě. Naopak u

kyanidu a sulfanu se jejich toxicita pro ryby se zvyšující se hodnotou pH vody snižuje. Úroveň pH má vliv také na původce chorob ryb. Dlouhodobé působení subletálních hodnot pH způsobuje u ryb stres. Význam výrazných změn pH vody na vznik stresových stavů u ryb uvádí Aquaculture Dictionary (cit. [1]). Dle Heteši a Kočkové (1997) pH vody ovlivňuje rozpustnost celé řady látek, které mají značný význam ve fyziologických procesech ryb, jako jsou soli železa, vápníku, fosforu a další.

Účinek různých hodnot pH na vodní organismy shrnuje tabulka 2 (www.fishspecialist.com, cit. Košťanská 2004)

Tabulka 2: Účinek hodnot pH na vodní organismy (www.fishspecialist.com, cit. Košťanská 2004 - přeloženo).

| | |
|-------------|--|
| 3,0 – 3,5 | Většina ryb přežívá pouze několik hodin |
| 3,5 – 4,0 | Letální hranice pro salmonidy |
| 4,0 – 4,5 | Ryby, většina žab a hmyzu nejsou přítomny |
| 4,5 – 5,0 | Většina rybích jiker se nelhne |
| 5,0 – 5,5 | Mizí plankton, dekompoziční bakterie odumírají, hromadí se odumřelý materiál |
| 5,5 – 6,0 | Většina sladkovodních koryšů mizí |
| 6,0 – 8,5 | Optimum pro většinu organismů |
| 8,5 – 9,0 | Většinou přímo neškodí rybám, nepřímý účinek změn chemismu |
| 9,0 – 10,5 | Škodlivý pro okouna a salmonidy při delší expozici |
| 10,5 – 11,0 | Dlouhodobá expozice je letální pro kapra a okouna |
| 11,0 – 11,5 | Letální pro všechny druhy ryb |

3.4 Neutralizační kapacita vody

Náhlé výkyvy pH negativně ovlivňují homeostázu vodních organismů. A to nejen raných stádií, ale i juvenilních a adultních jedinců. Za stabilitu pH ve vodním prostředí odpovídá především hydrogenuhličitanový komplex ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow 2\text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$) (Dodds a Whiles 2010). KNK je hodnota definující kolik silné kyseliny nebo hydroxidu je schopen pojmout 1 litr vody, než se skokově změní pH. Stanovuje se v mmol.l^{-1} . Hodnota KNK tak nepřímo informuje o množství vápníku a hořčíku rozpuštěném ve vodě. Platí, že pokud je hodnota KNK do 2 mmol.l^{-1} , reakce vody kolísá. Pokud je KNK $2 - 5 \text{ mmol.l}^{-1}$, pH je relativně stabilní, v případě překročení hodnoty 5 mmol.l^{-1} se již téměř nemění. Vzhledem k využívaným zdrojům vody a jejímu množství dodávanému do systému je ovlivnění pH vody v systému přítokem minimální. Díky intenzitě chovu ryb je pH vody v systému výrazně ovlivněno hlavně

výkyvy v intenzitě metabolismu ryb, a to zejména po nakrmení. Biofiltr je díky poměrně stálému dodávání CO₂ do systému, způsobenému metabolismem aerobních bakterií, významným zdrojem kyseliny uhličité (CO₂ + H₂O → H₂CO₃), která snižuje pH vody v systému. Na rozdíl od změn v intenzitě metabolismu ryb ale není příčinou prudkých výkyvů. To potvrdila i naše kontinuální a jednorázová měření.

3.5 Světlo

Vliv světla na metabolismus ryb je taktéž nezanedbatelný. Manipulací světelného dne lze u ryb vyvolat urychlení, nebo zpoždění pohlavního dozrávání (Svinger a kol. 2015, Duston a kol. 2003, Frantzen a kol. 2004, Holcombe a kol. 2000). U sivena amerického (*S. fontinalis*) lze umělým prodloužením světelného dne na 18 hodin docílit zpoždění pohlavního dozrávání, což zamezí agresivitě tržních ryb v podzimním období a tím ztratám kusovým i ztratám na výtěžnosti ryb, u kterých je výrazně snížen gonadosomatický index (Svinger a kol. 2015). Dále je manipulace délky světelného dne v praxi využívána, spolu s úpravou teploty, k prodloužení výtěrové sezóny lososovitých ryb od září do začátku července. Tato praxe umožňuje kontinuální chov a zásobování trhu lososovitými rybami požadované velikosti po celý rok při maximálním využití jejich růstového potenciálu. Změna intenzity světla může mít vliv na příjem potravy u pstruha duhového (*O. mykiss*). Tento jev ale nebyl potvrzen u sivena (*Salvelinus leucomaenis*, Pallas, 1814)(Noble a kol. 2005).

3.6 Dusíkaté látky

Dusík patří mezi nejdůležitější biogenní prvky. Je nezbytnou součástí proteinů a dalších buněčných struktur (Boyd a Tucker 1998). Je kvantitativně jedním z hlavních biogenních prvků spolu s uhlíkem, vodíkem a kyslíkem. Jeho biogeochemický cyklus je značně komplikovaný (Lellák a Kubíček 1991). Dusík se ve vodním prostředí vyskytuje jako rozpuštěný plyn N₂ (rozpustnost je poloviční v porovnání s O₂ a 50krát nižší než CO₂) a v podobě rozličných organických a anorganických sloučenin. V intenzivních chovech lososovitých ryb je však pouze další zplodinou metabolismu, kterou je nutno ze systému odstranit, nebo ji udržet ve formě, která není pro ryby toxická. Ve vodách se vyskytuje v různých oxidačních stupních, v iontové i neiontové formě. Zastoupení jednotlivých forem dusíku ve vodě je jen momentální vnější projev dynamického

procesu, během něhož přechází N z jedné formy do druhé (Heteša a Kočková, 1998). Pro ryby relativně neškodné dusičnany a amonné ionty mohou za určitých podmínek v rámci zmíněného procesu přecházet ve formy toxické (dusitany a volný amoniak).

NH_3 je hlavním produktem metabolismu dusíkatých látek u ryb. Ryby vylučují až 90 % dusíku z těla ve formě amoniaku přes stěnu žáber pasivním transportem bez potřeby energie (Wood 1993). Rostoucí koncentrace amoniaku v okolní vodě může bránit uvolňování amoniaku a posléze i zablockovat další uvolňování amoniaku z těla ryb. To může vést postupně až k autointoxikaci ryb, jejich onemocnění a následně i úhynu (Heteša a Kočková, 1997). Amoniak je pro vodní organismy prudkým neurotoxinem. Zbývající dusík je vylučován ledvinami v jiných formách. Plynný amoniak se ve vodě ihned rozpouští za tvorby hydroxidu amonného a amonných solí. Ve formě amonných solí je pro hydrobionty neškodný i v množství několika desítek mg.l^{-1} . To však platí pouze pro vody do pH 8. Nad touto hodnotou se začíná z amonných solí uvolňovat velké množství volného amoniaku. Hranice toxicity pro jelce tlouště (*Leuciscus cephalus*; L., 1758) je 1,0 až 1,2 mg.l^{-1} , pro plůdek pstruha duhového (*O. mikiss*) však již 0,006 až 0,010 mg.l^{-1} (Heteša a Kočková, 1997). Ryby lososovité se v přirozených podmínkách nesetkávají se zvýšeným obsahem amoniaku, proto nemají vyvinuty mechanismy, jak se tomuto stavu bránit jako ryby kaprovité (Sinha a kol. 2014). NH_3 , v důsledku silné závislosti jeho podílu ve vodě na pH a teplotě, nezjišťujeme zvláštním stanovením, ale vypočítáváme jeho obsah z obsahu NH_4^+ ve vztahu k pH a teplotě vody podle tabulky 3.

Beaumont a kol. (1995) pozorovali u pstruha obecného (*Salmo trutta*, L., 1758) při zvýšení koncentrace amoniaku ve vodě snížení pohybové aktivity, příjmu krmiva a zpomalení růstu. Při dalším nárůstu obsahu amoniaku v prostředí se ryby snaží prostředí opustit. Cai a kol. (1996) zkoumali produkci amoniaku v závislosti na obsahu proteinů v krmivu při stejné krmné dávce u pstruha duhového (*O. mykiss*). Ryby byly krmeny třemi dietami o obsazích proteinů 35 (deficitní), 40 (optimální) a 45 % (přebytek). Zjistili statisticky průkaznou vyšší produkci amoniaku u ryb krmených dietou se 45 % proteinu oproti rybám s dietou se 40 %. Během pokusu nezjistili průkazný rozdíl mezi intenzitou růstu mezi těmito skupinami. Mezi produkcí amoniaku u ryb krmených 35 % a 40 % dietou nebyl rozdíl, ale ryby s 35 % dietou měly prokazatelně nižší přírůstky. Úroveň produkce amoniaku při různých dietách, v kombinaci s hodnotami přírůstků, je dobrým indikátorem vhodnosti obsahu proteinů v krmivech pro jednotlivé druhy ryb. Toto zjištění by mohlo umožnit zkrácení doby zjišťování vhodného obsahu proteinu v

krmivu (Cai a kol. 1996). Vzhledem k tomu, že přebytek proteinů přijatý rybami způsobuje zvýšení produkce amoniaku, může zvýšená koncentrace amoniaku indikovat i překrmění ryb krmivem s ideálním obsahem proteinů.

Tabulka 3: *Závislost mezi pH, teplotou a obsahem amoniakálního dusíku* (Heteša a Kočková, 1997).

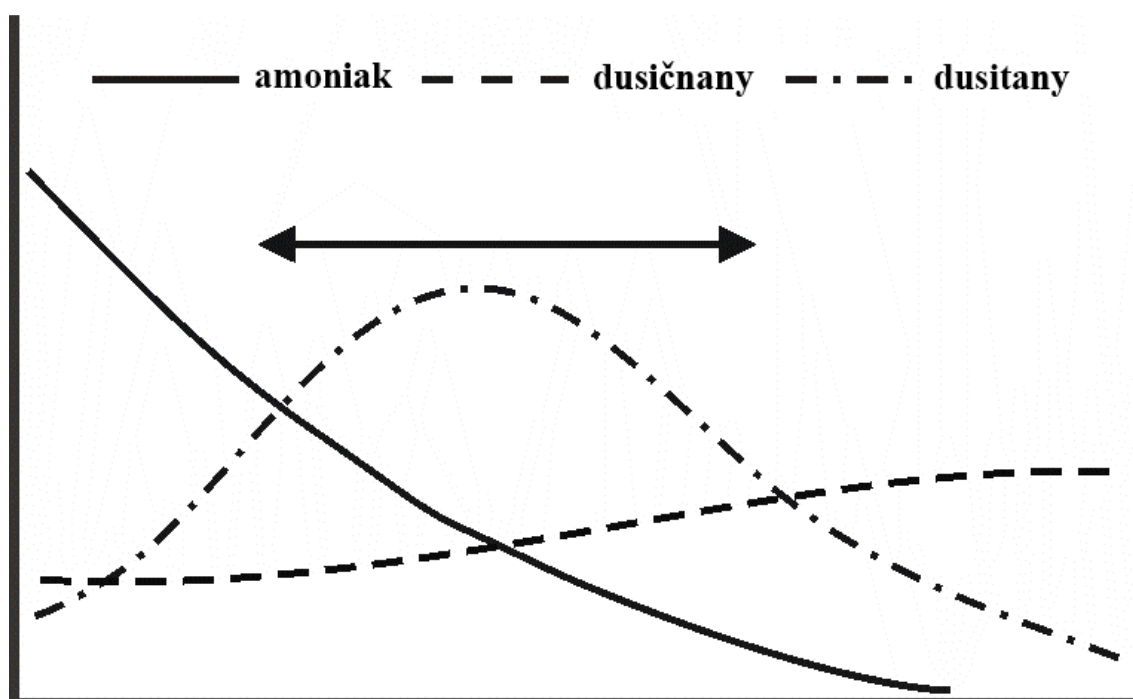
| pH | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,5 | 8,0 | 8,5 | 9,0 | 9,5 | 10,0 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| °C | | | | | | | | | |
| 0 | 0,008 | 0,026 | 0,082 | 0,261 | 0,820 | 2,550 | 7,640 | 20,700 | 45,300 |
| 5 | 0,012 | 0,039 | 0,125 | 0,394 | 1,230 | 3,800 | 11,100 | 28,300 | 55,600 |
| 10 | 0,018 | 0,059 | 0,186 | 0,586 | 1,830 | 5,560 | 15,700 | 37,100 | 65,100 |
| 15 | 0,027 | 0,086 | 0,273 | 0,759 | 2,670 | 7,970 | 21,500 | 46,400 | 73,300 |
| 16 | 0,029 | 1,093 | 0,294 | 0,925 | 2,870 | 8,540 | 22,800 | 48,300 | 74,700 |
| 17 | 0,032 | 0,101 | 0,317 | 0,996 | 3,080 | 9,140 | 24,100 | 50,200 | 76,100 |
| 18 | 0,034 | 0,110 | 0,342 | 1,070 | 3,310 | 9,780 | 25,500 | 52,000 | 77,400 |
| 19 | 0,037 | 0,117 | 0,368 | 1,150 | 3,560 | 10,500 | 27,000 | 53,900 | 78,700 |
| 20 | 0,039 | 0,125 | 0,396 | 1,240 | 3,820 | 11,200 | 28,400 | 55,700 | 79,900 |
| 21 | 0,043 | 0,135 | 0,425 | 1,220 | 4,100 | 11,900 | 29,900 | 57,500 | 81,000 |
| 22 | 0,045 | 0,145 | 0,457 | 1,430 | 4,390 | 12,500 | 31,500 | 59,200 | 82,100 |
| 23 | 0,049 | 0,156 | 0,491 | 1,540 | 4,700 | 12,700 | 33,000 | 60,900 | 83,200 |
| 24 | 0,053 | 0,467 | 0,527 | 1,650 | 5,030 | 14,400 | 34,600 | 62,6 | 84,100 |
| 25 | 0,057 | 0,180 | 0,566 | 1,770 | 5,380 | 15,300 | 36,300 | 64,300 | 85,100 |
| 30 | 0,080 | 0,254 | 0,799 | 2,480 | 7,460 | 20,300 | 44,600 | 71,800 | 89,000 |

Dusitany zpravidla doprovázejí ve vodě dusičnany a formy amoniakálního dusíku. Vzhledem ke své chemické a biochemické nestálosti se obvykle vyskytují ve velmi malých a často jen stopových koncentracích. V přírodních vodách dusitany mezi anorganickými formami dusíku nikdy nedominují, protože v aerobních podmínkách jsou rychle transformovány nitrifikací na dusičnany. Naopak v anoxických podmínkách přechází biologickou denitrifikací na elementární dusík respektive N₂O. Proto lze dusitany často prokázat v nízkých koncentracích jako meziproduct chemických a biochemických transformací dusíku (Pitter, 1999). Průměrná hodnota dusitanového dusíku v pitných vodách z 8 regionů ČR byla 0,004 mg.l⁻¹ (NO₂⁻ 0,026 mg.l⁻¹) v povrchových vodách se koncentrace dusitanového dusíku pohybují od 0,004 – 0,179

mg.l⁻¹ (Pitter, 1999). Zvýšené koncentrace dusitanů (řádově desetiny, ale i desítky mg.l⁻¹ N-NO₂⁻) se mohou vyskytovat v recirkulačních systémech pro intenzivní chov hospodářských a okrasných ryb (Svobodová a kol. 2005; Dvořák, 2004). Tyto koncentrace dusitanů se v RAS vyskytují zejména bezprostředně po zahájení provozu, nebo v důsledku nerovnováh v procesu nitrifikace (Obrázek 2) (Bregnballe, 2010, Kamstra a kol. 1996; Avnimelech a kol. 1986). Proces nitrifikace je v recirkulačních systémech využíván v biofiltrech k biologickému odbourání amoniaku, hlavního produktu dusíkatého metabolismu ryb (Wood, 1993). Během nitrifikace dochází k biologické oxidaci amoniakálního dusíku na dusitany a následně na dusičnany, které jsou pro ryby téměř neškodné (LC50 se u N-NO₃⁻ pohybuje v řádech stovek mg.l⁻¹ - Svobodová a kol. 2008). Pokud je druhá fáze nitrifikace pomalá (nedostatečný rozvoj nitratačních bakterií, nebo jejich odumření v důsledku léčebného zásahu), dochází v systému k hromadění dusitanů, které bývá příčinou onemocnění ryb a někdy i příčinou jejich hromadného úhynu (Svobodová a kol. 2005). Mezi faktory ovlivňující nitrifikaci patří pH, teplota, koncentrace O₂, počet nitrifikačních bakterií nebo látky nitrifikaci inhibující, jako methylenová modř, antibiotika a některé organické látky (anilín, dodecylamin, p-nitrobenzaldehyd) (Russo a Thurson, 1991). Kroupová a kol. (2005) uvádí, že NO₂⁻ má určitou afinitu k iontové výměně Cl⁻ za HCO₃⁻ a pokud jsou ve vodě přítomny dusitany, část příjmu Cl⁻ je nahrazena NO₂⁻ (ryba přijímá dusitany na úkor chloridů). Sladkovodní ryby jsou vůči svému prostředí hyperosmotickými organismy. Ztrátu iontů močí a pasivním transportem ve směru osmotického gradientu vyrovnávají aktivním příjmem iontů z prostředí pomocí chloridových buněk umístěných v epitelu žaber (Maetz, 1971). Chloridové buňky aktivně vyměňují vodíkové ionty za stejný počet sodných iontů a hydrogenuhlíčitanové ionty za stejný počet chloridových iontů z vodního prostředí (Love, 1980). Problém s dusitany ve sladké vodě spočívá v afinitě NO₂⁻ k výměně Cl⁻ za HCO₃⁻, takže pokud jsou v okolní vodě NO₂⁻, ryby je aktivně přijímají na úkor části přijímaných Cl⁻. To potvrzuje i fakt, že ryby s rychlejším příjmem chloridů, pstruh duhový (*O. mykiss*), okoun říční (*Perca fluviatilis*, L., 1758), štika obecná (*Esox lucius*, L., 1758), candát obecný (*Sander lucioperca*, L., 1758) jsou citlivější k dusitanům než ryby s nízkou rychlostí příjmu chloridů, kapr obecný (*Cyprinus carpio*, L., 1758), úhoř říční (*Anquilla anquilla*, L., 1758), lín obecný (*T. tinca*), sumeček africký (*Calrias gariepinus*, Burchell) (Williams a Eddy, 1986). Koncentrace dusitanů v krevní plazmě může být až šedesátkrát vyšší, než v okolní vodě (Fontenot a kol. 1999). Dusitany z krevní plazmy prostupují do červených krvinek, kde

se váží na železitou složku hemoglobinu a přeměňují hemoglobin na methemoglobin, který není schopen přenosu O_2 ani CO_2 (Cameron, 1971). Zvýšený obsah methemoglobinu v krvi se projevuje hnědým zbarvením žaber. Hnědá barva žaber byla patrná u tilapie nilské již při obsahu methemoglobinu v krvi cca 20 % (Svobodová a kol. 2005) Zvýšený obsah dusitanů v krevní plasmě umožňuje jejich pronikání do červených krvinek a vznik methemoglobinu. Koncentrace methemoglobinu, které se u ryb projevují úhynem nebo ovlivňují růst, případně zabraňují normálnímu chování ryb, se liší podle druhu ryb a jsou silně ovlivněny okolními podmínkami. Za nejdůležitější faktory ovlivňující toxicitu dusitanů jsou považovány kvalita vody (pH, teplota, koncentrace kyslíku, kationtů a aniontů, z nichž jsou nejdůležitější chloridy), délka expozice, druh, věk a velikost ryb a individuální citlivost ryb (Kroupová a kol. 2005). Dusitany také ovlivňují kardiovaskulární systém. Např. pstruh duhový (*O. mykiss*) vystavený zvýšeným koncentracím dusitanů v okolní vodě (1 mM NO_2^-) reaguje prudkým trvalým zvýšením srdečního rytmu. Srdeční rytmus dále vykazuje velice malou variabilitu, což svědčí o tom, že dochází k fyziologickému poškození kardiovaskulárního systému (Aggergaard a Jensen, 2001). Crawford a Allen (1977) zjistili, že toxicita dusitanů je silně závislá na salinitě vody. V mořské vodě zaznamenali 50 až 100 krát nižší úmrtnost ryb než ve sladké při stejné koncentraci dusitanů. Závislost toxicity dusitanů na obsahu chloridů ve vodě je lineární (Russo a Thurson, 1977; Palachek a Tomasso, 1984; McConell, 1985; Máchová a Svobodová, 2001). V chovech ryb se z tohoto důvodu doporučuje sledovat vzájemný poměr mezi Cl^- a $N-NO_2^-$ (EFIAC, 1984). V chovech lososovitých ryb by tento poměr (chloridové číslo) neměl klesnout pod 17 a u ostatních ryb pod 8 (EFIAC, 1984). Svobodová a kol. (2001) vyšetřovali 3 případy úhynu ryb ve 3 recirkulačních odchovných systémech v letech 1999 a 2000 s diagnózou otrava ryb dusitany. První byl případ úhynu sumců velkých (*Silurus glanis*, L., 1758). Nový rybochovný objekt byl rybami nasazen na plnou kapacitu. 10 dnů po nasazení byl pozorován postupný úhyn ryb. Rozborem vody byla zjištěna koncentrace dusitanů $1,60 \text{ mg.l}^{-1}$ ve vlastní odchovné nádrži a $2,75 \text{ mg.l}^{-1}$ v biofiltru. Zvýšená koncentrace dusitanů v systému byla způsobena nedostatečně účinným biofiltrem (zejména pro 2. Fázi nitrifikace, tj. oxidace NO_2^- na NO_3^-). Ve druhém případě šlo opět o úhyn sumců velkých (*S. glanis*) v recirkulačním systému, který byl zprovozněn bezprostředně před nasazením ryb. Obsah dusitanů (i amoniaku) vlivem nezpracování biofiltru (předčasného nasazení plné obsádky ryb) vzrostl během 9 dnů z $0,00$ (pod hranicí indikace) až na $3,00 \text{ mg.l}^{-1}$ vody. To zapříčinilo úhyn ryb.

Třetím případem byl úhyn línů obecných (*T. tinca*) v experimentálním rybochovném objektu používaném pro testování anestetik. Nebyla zjištěna příčina zvýšení obsahu dusitanů v odchovných nádržích, ale koncentrace dusitanů, při níž ryby byly malátné, křečovitě se pohybovaly a hynuly, byly v rozmezí 1,20 až 1,90 mg.l⁻¹. Z výše uvedených pozorování vyplývá, že lín je na dusitany citlivější než sumec. Osobně jsem byl přítomen přiotrávení ryb dusitany na intenzivním recirkulačním systému Dánského typu po usmrcení bakterií druhé fáze nitrifikace po aplikaci antibiotických látek rybám. Antibiotika byla rybám podávána ve vodném nástřiku na granulích před jeho zaschnutím, a proto se jich většina uvolnila do prostředí a usmrtila většinu nitratačních bakterií v biologickém filtru. Do dvou dnů po aplikaci antibiotik vzrostl obsah dusitanů na 0,650 mg.l⁻¹, což není mnoho, ale při obsahu chloridů na úrovni 5,95 mg.l⁻¹ (chloridové číslo 9,15) ryby vykazovaly příznaky dušení i při 11,3°C teploty vody a více než 70% nasycení vody kyslíkem na odtoku z odchovných žlabů. Do systému byla okamžitě aplikována sůl a obsah chloridů byl zvýšen na úroveň kolem 100 mg.l⁻¹.



Obrázek 2: Změny obsahu jednotlivých forem dusíkatých sloučenin v průběhu přirozené kolonizace biofiltru nitrifikačními bakteriemi (Bregnballe,2010, upraveno).

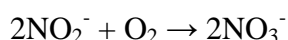
Hodnoty v grafu na obrázku 2 nejsou znázorněny záměrně, protože jejich výše a časový průběh změn jejich poměrů je závislý na biomase vodních organismů v systému, intenzitě jejich krmení a hlavně teplotě vody.

Druhý den byla rybám odebrána krev a i 24 hodin po aplikaci soli byl obsah methemoglobinu v krvi ryb kolem 25 % celkového obsahu hemoglobinu.

Nitrifikace je disimilační proces, protože dochází ke změně formy dusíku, který ale není asimilován (Dodds a Whiles 2010). Tento proces je zprostředkován několika málo rody bakterií. Oxidace amonného iontu je zprostředkována převážně rodem *Nitrosomonas* za vzniku dusitanu, který je následně znovu oxidován prostřednictvím rodů *Nitrobacter* a *Nitrospira*. Jedná se o chemolithoautotrofní, gram-negativní organizmy s dlouhým generačním cyklem (20 až 40 hodin) (Knowles a kol. 1965). Přírůstek jejich množství je i při 20 °C jen o 60 a 45 % (nitritační a nitratační) jejich původní biomasy za den (Painter nad Loveless, 1983). Rovnice průběhu aerobní nitrifikace je uvedena níže:



a



Během nitrifikace jsou spotřebovávány 2 moly kyslíku na každý mol oxidovaného NH_4^+ . Nitrifikační bakterie získávají energii z oxidace NH_4^+ a NO_2^- . Zisk čisté energie (ΔG) z oxidace NH_4^+ je okolo 65 kcal.mol⁻¹ a z oxidace NO_2^- je okolo 18 kcal.mol⁻¹. K zachování rovnocenného mikrobiálního růstu musí být tedy oxidováno třikrát tolik NO_2^- oproti NH_4^+ (Hargreaves 1998, Boyd a Tucker 1998). Proces nitrifikace je ovlivněn koncentrací rozpuštěného kyslíku, teplotou, koncentrací substrátu, pH, množstvím nitrifikačních bakterií a dostupností povrchu. Během nitrifikačních procesů se spotřebovává kyslík a uvolňují vodíkové ionty, které okyselují prostředí. Snižuje se hodnota kyselinové neutralizační kapacity (KNK_{4,5}) a při nedostatečné tlumivé kapacitě vody může významně klesnout i hodnota pH (Pitter, 2009). Oba tyto vlivy jsou v akvakultuře významnými faktory mající vliv na dynamiku kvality vody (Boyd, 1995). Hodnota koncentrace dusičnanů v systému je posléze závislá na množství krmiva do systému vneseného a výměně vody v systému. Při výskytu anaerobních podmínek v systému, nebo míst s nízkým obsahem kyslíku, je i v systémech založených primárně na nitrifikaci možný souběžný průběh denitrifikace, nebo odbourávání amoniaku na volný dusík přes dusitany (ANAMMOX). Během nitrifikace, denitrifikace a ANAMMOX procesu může vznikat i určité množství oxidu dusného, dusnatého a molekulárního dusíku (N₂), které následně uniká do ovzduší (Ma a kol. 2015, Kong a kol. 2013, Okabe a kol. 2011, Desloover a kol. 2011). ANAMMOX bakterie se vyskytují ve vodním prostředí téměř všude, včetně jejich přítomnosti i ve výkalech jak sladkovodních, tak mořských ryb (van Kessel a kol. 2011). Z tohoto důvodu většinou neodpovídá bilance obsahu dusíku vtékajícího do biologického filtru rozpuštěného ve vodě jeho obsahu ve vodě za biologickým filtrem.

Samostatnou kapitolou týkající se dusíku je přesycení vody jeho molekulární formou, která je pro většinu vodních organismů formou inertní, kterou neumí metabolizovat. Inertní chování dusíku ve vodním prostředí a ve tkáních vodních organismů, spolu s dalšími inertními plyny, jejichž přesycení nebývá v přírodních podmínkách běžné (Argon, Neon, Helium), při jeho přesycení způsobuje u ryb embolie (Gas Bubble Disease - GBD). Odolnost ryb vůči emboliím způsobeným přesycením vody dusíkem je druhově specifická a je výrazně ovlivněna velikostí ryb a jejich zdravotním stavem (Gültepe a kol. 2011, Johnson a kol. 2010, Roberts 2001, Batzios a kol. 1998, Denson a kol. 1986). Míru přesycení vody molekulárním dusíkem, právě díky jeho inertnímu chování v prostředí, je v terénu téměř nemožné měřit. Pro lososovité ryby je kritická hodnota přesycení vody dusíkem od 102 % výše. Při této hodnotě přesycení vody dusíkem se však neobjevují viditelné embolie (Elston a kol. 1997), ryby jsou pouze podrážděné, mohou mít tmavé zbarvení, neklidné chování a snažit se z prostředí uniknout. Při přesycení kolem 115% se objevují viditelné embolie na žábřácích, očích (El-Deen a kol. 2013, Speare 1990; 1991) a ploutvích a uvnitř těla (mozek, cévy, . . .), při 120% přesycení ryby rychle hynou při snaze opustit prostředí přesycené dusíkem před vytvořením viditelných embolií (Desbarats online 1, Unknown online 2, FAO online 3).

3.7 Organické látky

Organické látky se ve vodě vyskytují ve formě rozpuštěné a nerozpuštěné. V intenzívních chovech lososovitých ryb, a to hlavně v RAS, je zvýšený obsah obou těchto forem organických látek nežádoucí, neboť výrazně podporuje růst heterotrofních bakterií v biofiltru a všeobecně bakterií v systému. Heterotrofní bakterie ve filtru přerůstají biofilm autotrofních bakterií, zabraňují jim v přístupu ke kyslíku a tím omezují základní funkci biofiltru, nitrifikaci. Rychlost růstu heterotrofních bakterií dosahuje znásobení počtu bakterií v prostředí až 4,7x za den. Rozvoj heterotrofních bakterií v biofiltru je ovlivněn především poměrem uhlíku a dusíku (C:N) přitékajících do biofiltru. Vlivem různých poměrů C:N na intenzitu nitrifikace v aerobních biologických filtrech se zabývalo mnoho autorů, kteří došli k rozličným závěrům. Bina a kol. (2005) zjistili pozitivní korelaci mezi intenzitou odbourávání amoniaku pře zvyšování poměru C:N od 10 do 14, při vyšších poměrech efektivita nitrifikace klesala (do C:N 24). To potvrdilo i pozorování Mirhossaini a kol. (2010) kteří sledovali

efektivitu odbourávání amoniaku při poměrech C:N od 10 do 32. Těchto výsledků však bylo dosaženo při vysokých teplotách a koncentracích amoniaku neslučujících se s parametry vody pro chov ryb a už vůbec ne lososovitých. Han a kol. (2010) a Liu a kol. (2015) pozorovali při nižších teplotách vhodných pro chov lososovitých ryb snižující se efektivitu nitrifikace při poměrech C:N vyšších, než 2,0. Ling a Chen (2005) při 15 a 20 °C a při zvyšování poměru C:N (0; 0,5 a 2,0) pozorovali dokonce exponenciální zhoršování efektivitu nitrifikace. Rozpuštěné organické látky ve vodě produkované některými kmeny heterotrofních organismů (geosmin a isoborneol) mohou také způsobovat nepříjemnou příchuť a zápach masa (Davidson te. al. 2014, Robin a kol. 2006). Organické látky obecně, ale hlavně nárůsty heterotrofních bakterií a sedimentované organické látky v systému, slouží nejen jako zdroj rozvoje anaerobních pochodů uvolňujících toxické látky (NH₃, H₂S), ale i jako substrát pro množení patogenních bakterií a přežití parazitů, kteří by v čistém systému normálně nepřežili. Například kožovec rybí (*Ichthyophthyrus multifiliis*) bez hostitele přežívá maximálně několik hodin, ale jako náhradní výživa mu mohou sloužit bakterie, které tuto dobu prodlouží i na více než měsíc. Nerozpuštěné organické látky také mohou dráždit žaberní epitel a tím jej zpřístupnit bakteriálním a plísňovým patogenům (sekundární zaplísnění). Dále organické látky při rozkladu spotřebovávají kyslík nezbytný pro ostatní aerobní pochody v systému. Hlavním zdrojem organických látek v recirkulačním systému je rybám podávané krmivo a jeho rybami nepřijaté, nebo nestrávené zbytky a výkaly. Ty se v případě jejich delšího setrvání v systému rozpouštějí a uvolňují do vody. Z tohoto důvodu je jejich včasné a efektivní odstranění jedním z limitujících faktorů využití RAS. Díky vysoké koncentraci chovaných ryb v RAS nepřijaté krmivo jako zdroj nerozpuštěných látek téměř nepřipadá v úvahu a většina je jich tvořena výkaly ryb (Bergheim a Asgard 1996, Summerfelt 1999). Většina nerozpuštěných látek je ze systému dánského typu odstraňována sedimentací v sedimentačních kuželech na konci každého odchovného žlabu. Zde je proudění vody nejpomalejší (1 – 4 cm.s⁻¹ 10 - 50 cm nad kužely), což dostačuje k sedimentaci většiny pevných částic menších než 350 μm (Huggins a kol. 2005). Relativní zastoupení jednotlivých velikostí pevných částic podle velikosti, rychlost potřebnou k jejich sedimentaci a efektivitu jejich sedimentace znázorňuje tabulka 4.

Tabulka 4: *Efektivita odstraňování pevných částic z recirkulačního systému k chovu ryb v závislosti na velikosti částic a rychlosti proudu (převzato z Huggins a kol. 2005).*

| velikost částic [μm] | sedimentační rychlost [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] | relativní podíl frakce | Efektivita odstranění [%] |
|-----------------------------------|--|------------------------|---------------------------|
| 692 | 0,0391 | 0,240 | 100,0 |
| 532 | 0,0231 | 0,251 | 100,0 |
| 350 | 0,0100 | 0,250 | 100,0 |
| 204 | 0,0034 | 0,136 | 54,7 |
| 61 | 0,0003 | 0,117 | 0,9 |
| 35 | 0,0001 | 0,006 | 0,1 |

3.8 Bakteriální oživení biologického filtru

Se zvyšujícím se podílem ryb odchovaných v intenzivních recirkulačních systémech se zvyšuje i počet studií zabývajících se funkcí biologické filtrace a jejich důležitostí. Jak již bylo zmíněno výše. Nedostatečná funkčnost biofiltru, nebo její narušení, může vést k fatálním následkům. Drobné omezení funkce biologické filtrace může zapříčinit chronické působení nízkých koncentrací toxických látek na ryby. Ty se posléze stávají vnímavějšími k patogenním agens v prostředí se vyskytujícím. Jak říkají Dánští chovatelé ryb: „Pokud správně funguje biologický filtr, není důvod k tomu, aby byly jakékoliv problémy s chovem ryb v recirkulačním systému.“ To je ale v praxi podmíněno udržením systému prostého patogenních virů, bakterií a parazitů.

Většina intenzivních recirkulačních systémů pro chov lososovitých ryb v České republice i v zahraničí je založena na recirkulaci vody přes biologické filtrační jednotky založené na aerobní nitrifikaci. Tento proces odbourává amoniak vyprodukovaný rybami, přes dusitany, na dusičnany. Ty jsou, na rozdíl od amoniaku a dusitanů, pro ryby téměř netoxické. Průběh nitrifikace zajišťují nitrifikační bakterie ve vodě, stejně jako v půdě, nebo sedimentu. Nitrifikaci ovlivňuje především teplota, obsah kyslíku rozpuštěného ve vodě a pH. Teplota ovlivňuje rychlost metabolismu nitrifikačních bakterií. I při dlouhodobé (4 měsíce) expozici nitrifikačních bakterií ve funkčním biofiltru snížené teplotě zůstává množství a poměry jednotlivých druhů bakterií na povrchu elementů v biologickém filtru konstantní (Delatolla a kol. 2012). Jak již bylo zmíněno výše, do nitrifikace se zapojují hlavně rody *Nitrobacter*, *Nitrosomonas* a

Nitrosococcus. Přibližně před 15 lety bylo zjištěno, že v biologických filtrech i při udržení aerobních podmínek může probíhat simultánně nitrifikace i denitrifikace a navíc odbourávání amoniaku přes dusitany na volný dusík anaerobně na základě gradientu koncentrace kyslíku v bakteriálním biofilmu (ANAMMOX) (Kartal a kol. 2012), nebo aerobně (CANON), který následně prostředí opouští ve formě plynu a uniká do ovzduší. Těchto procesů se již zúčastňuje mnohem více rodů bakterií a připojují se do nich i archea a palnktomycety (Fan a kol. 2010, Gao a kol. 2014), které jsou díky členité vnitřní stavbě buněk (Woese 1994, Fuerst 2014, Jia a kol. 2014, Neumann a kol. 2014, van Niftrik 2013), schopné nitrifikace, denitrifikace, odbourávání dusitanů na molekulární dusík i fixace vzdušného dusíku a asimilace dusičnanů (Cabello a kol. 2004, Francis a kol. 2007, Coolen a kol. 2007, Leininger a kol. 2007). Hlavními rody archeí podílejícími se na přeměně forem dusíku se zdají být *Nitrososphaera* a *Nitrosopimilus* (Gao a kol. 2014). Hlavním rodem *Planktomycetes* by měl být rod *Candidatus* (Li a kol. 2009). Některé druhy archeí jsou schopny získávání energie i fototrofním způsobem. Neprodukují však kyslík (Schäfer a kol. 1999).

Zabíhání biologického filtru je proces, ke kterému dochází, když biofiltr začneme zatěžovat přísunem amoniaku, resp. amonných iontů. Je specifickou fází každého začátku používání nového recirkulačního systému, nebo obnovení funkce biofiltru v systému po čištění a desinfekci, nebo havárii způsobeném usmrcení nitrifikačních bakterií v biofiltru. Ve filtru se začne pomalu vytvářet mikroflóra nitrifikačních bakterií a rychlost rozvoje této mikroflóry je, díky jejich pomalému růstu, závislá na množství bakterií v systému se nacházejících, teplotě vody a vhodnosti povrchů elementů, ve filtrační jednotce. Většina bakterií, které se podílejí na koloběhu dusíku v přírodě, žije přisedle na substrátu (filtrační elementy, sedimenty, aktivovaný kal – Lang a kol. 2013). Během záběhu biofiltru se ve většině případů vytváří nejdříve mikroflóra bakterií nitritačních a v návaznosti na začátek produkce dusitanů v systému začnou růst bakterie nitratační. Přibližný průběh obsahů jednotlivých forem dusíku během této fáze zobrazuje graf na obrázku 2. Výše zmíněná skutečnost, spolu se zvyšujícím se množstvím recirkulačních systémů pro chov ryb ve světě, vede ke vzniku mnoha různým systémů a způsobů snah o ovlivnění a hlavně urychlení tohoto procesu. Vzhledem ke značné energetické náročnosti provozu recirkulačních systémů je vhodné toto období co možná nejvíce zkrátit. Náklady na dlouhý přirozený záběh biologického filtru se totiž neskládají pouze z energie spotřebované systémem. Je nutno také přičíst potřebu obsluhy, která vykonává prakticky stejné úkony ať je systém plný ryb, nebo je

v něm jen omezená obsádka, aby nedošlo k intoxikaci ryb jimi produkovaným amoniakem, a hlavně nevyužití růstového potenciálu ryb do systému nasazených. Ty je nutno během dlouhé doby přirozeného záběhu biofiltru krmit pouze omezeně a to ze stejného důvodu, z jakého je jich v recirkulaci omezené množství. Prvotní záběh recirkulačního systému v Pravíkově proběhl přirozeně a trval více než pět měsíců. Většina vědeckých prací zabývajících se touto problematikou je zaměřena na použití různých forem aktivovaného kalu z různých zdrojů (Bartolík a kol. 2011, Bollmann a Laanbroek 2001, Egli a kol. 2003, Kishida a kol. 2012). Tato praxe je ale z hlediska zoohygienického a hlediska potřeby udržení rybochovných systémů prostých kmenů bakterií, které produkují nežádoucí látky způsobující nežádoucí příchutě a pachy rybího masa, typické pro recirkulační systémy (geosmin a isoborneol - Davidson a kol. 2014) poměrně nevhodná. Mnohem vhodnější se zdá využití směsí čistých kmenů nitrifikačních bakterií ve formě na trhu dnes již poměrně běžně dostupných inokulačních preparátů. Otázkou následně je kvalita jednotlivých preparátů v poměru k jejich ceně, která se při aplikaci do velkých RAS může vyšplhat i na úroveň stovek tisíc korun českých. Tyto preparáty bývají totiž primárně určeny pro využití pro hobby účely, záběhy biologických filtrů u jezírek pro chov okrasných ryb a jejich dávkování bývá počítáno podle objemu celého systému a v poměru k ceně obsádky je majitel jezírka s okrasnými rybami ochoten platit za inokulum i nemalé částky. Přehnanou cenu inokula lze relativně snížit dále popsanou metodou. Doporučené hodnoty fyzikálně-chemických parametrů pro chov lososovitých ryb zobrazuje tabulka 5.

3.9 Složení krve ryb v závislosti na fyzikálně-chemických parametrech vody

Pstruzi žijící v hypoosmotickém prostředí kompenzují nedostatek elektrolytů jejich aktivním příjmem přes žaberní epitel a vylučováním velkého množství vody ledvinami. Důležitost příjmu iontů v potravě se zvyšuje s rostoucí hodnotou pH, kdy je příjem sodíku a chloridů žaberním epitelem omezen (D´Cruz and Wood, 1998).

Změny biochemického složení krevní plasmy ryb jsou ovlivněny nejen prakticky všemi výše zmíněnými faktory, ale i dalšími faktory jako stress, chemikálie (Manera and Britti 2006, Řehulka a Párová 2000a, 2000b, Velíšek *a kol.* 2008, Velíšek *a kol.* 2009) a pohlaví ryb (Řehulka a Minařík, 2008). V literatuře není dostatek dat k porovnání vlivu fyzikálních a chemických vlivů na složení krevní plasmy pstruhů

duhových (*O.mykiss*). Obecně převažuje názor, že hlavním zdrojem elektrolytů pro udržení acido-bazické rovnováhy pstruha je potrava. Například nejvyšších hodnot dosahuje obsah vápníku a fosforu v létě, kdy ryby přijímají nejvíce krmiva (Manera a Britti 2006, Meka a McCormick 2005, Řehulka a Minařík 2008, Řehulka a Minařík 2001, Řehulka a Párová 2000a, 2000b, Velíšek *a kol.* 2008, Velíšek *a kol.* 2009).

Tabulka 5: Doporučené hodnoty fyzikálně-chemických parametrů pro chov ryb v recirkulačních systémech Dánského typu (Bregnballe, 2010, přeloženo).

| Parametr | Značka | Jednotka | Rozpětí hodnot | Nevhodné hodnoty |
|------------------------------|------------------------------|----------|------------------|------------------|
| Teplota | t | °C | Dle druhu | |
| Nasycení vody O ₂ | O ₂ | % | 70 - 250 | < 40 a > 250 |
| Nasycení vody N ₂ | N ₂ | % | 80 - 100 | > 101 |
| Amonné ionty | NH ₄ ⁺ | mg.l-1 | 0 - 2,5 (dle pH) | > 2,5 |
| Volný amoniak | NH ³ | mg.l-1 | < 0,01 | > 0,025 |
| Dusitany | NO ₂ ⁻ | mg.l-1 | 0 - 0,5 | > 0,5 |
| Dusičnany | NO ₃ ⁻ | mg.l-1 | 100 - 200 | > 300 |
| pH | | | 6,5 - 7,5 | < 6,2 a > 8,0 |
| Alkalita | KNK | | 1 - 5 | < 1 |
| Chemická spotřeba kyslíku | CHSK _{Cr} | mg.l-1 | 25 - 100 | |
| Biologické spotřeba kyslíku | BSK ₅ | mg.l-1 | 5 - 20 | > 20 |
| Vápník | Ca ₂ ⁺ | mg.l-1 | 5 - 50 | |

4 MATERIÁL A METODIKA

Díky širokému rozpětí zaměření mé práce se metodika jednotlivých pokusů značně liší, a proto popíši několik rozdílných metodik, kterými jsme, s pomocí kolegů z oddělení rybářství a hydrobiologie, dospěli k výsledkům naší práce.

4.1 Recirkulační systémy Dánského typu

V současné době jsou v České republice v provozu tři systémy Dánského typu založené na stejné konstrukci. V pořadí od nejstaršího k nejnovějšímu jsou to systémy v Žáru (Šumava), u Pravíkova (Českomoravská vrchovina) a ve Žďáru nad Sázavou (Vysočina). První zmíněný systém prošel v několika předcházejících letech podstatnou úpravou a modernizací, oproti původnímu projektu. Většina našich výsledků pochází ze systému u Pravíkova.

Chovné zařízení Pravíkov je lokalizováno nedaleko Kamenice nad Lipou v nadmořské výšce 600 m n. m (GPS: 49°19'9.04"N; 15°5'39.97"E). Vlastní objekt recirkulačního systému je téměř identický se systémem vybudovaným v Žáru (má o dva odchovné žlaby méně) a Žďáru nad Sázavou. Určen je pro produkci lososovitých ryb do tržní (tabulové) velikosti (pstruh duhový, siven americký). Schéma systému zobrazuje obrázek 4. Objekt je vybudován na základě projektu s využitím prvků dánské technologie s použitím 3 dmychadel napojených na 3 typy difuzérů. Difuzéry zajišťují pohyb vody v systému, dotaci vody kyslíkem a pohyb plovoucí náplně v biologickém. Doplňkově je jejich výkon využit pro odkalování ponořené části biofiltru a výlov ryb z chovných žlabů. Celý systém má objem přibližně 1.000 m³ a funguje na principu opakovaného využití vody s kontinuálním přítokem do systému (částečná recirkulace). V závislosti na množství připouštěné vody je možná výměna vody 1x za 36 h. Chovná část je tvořena 12 paralelně řazenými žlaby o délce 11 m, šířce 2m a výšce 2m. Výška vodního sloupce je 1,6 – 1,7 m. Každý žlab má objem přibližně 35 m³. Každý žlab je vybaven vlastním difuzérem a dvojicí sedimentačních kuželů. Ty jsou oddělené od chovaných ryb mříží. Každý difuzér je vybaven regulačním ventilem, umožňujícím upravit množství přiváděného vzduchu. Žlaby jsou vybaveny otvorem pro slovování. Zahrazením odtokového okna a otevřením uvedeného otvoru je možné celou obsádku žlabu vypustit přímo na třídičku nebo do přepravní bedny. Další část, přibližně jednu třetinu objemu RAS, tvoří biofiltr. Čerpání vody z filtru a její rozvod do jednotlivých chovných žlabů je zajištěn hlubokým airliftem, umístěným v hloubce 2,5 m. Umístění v této hloubce je na hranici způsobující přesycení vody dusíkem (N₂). Výměna vody v jednotlivých chovných nádržích je regulována velikostí nápuštného otvoru. Proudění vody v těchto nádržích je tvořeno jednak proudem přitékající vody a dále výkonem roštu z perforovaného potrubí (nízkotlakého airliftu) umístěného na opačné straně žlabu (tedy proti přítoku), do kterého je přiváděn vzduch z jednoho z dmychadel. Přívod

vzduchu je regulován a vytváří protiproud. Umístění roštu s přívodem vzduchu 80 cm pod hladinou nádrže způsobuje efekt vzduchové pumpy (airlift), kdy proud vody je směřován pomocí pevné desky umístěné za roštem. Proud vody protékající žlabem těsně nade dnem je funkcí airliftu ve žlabu urychlen a lépe odplavuje sedimenty. Ty se usazují v sedimentačních kuželech na konci chovných nádrží za mříží s patentovaným tvarem lamel hydrodynamického (křídlovitého) tvaru, které kladou průtoku vody zanedbatelný odpor. Podélný průřez žlabem s vyznačením proudění vody vlivem funkce airliftu a umístěním mříže a sedimentačních kuželů zobrazuje obrázek 3.

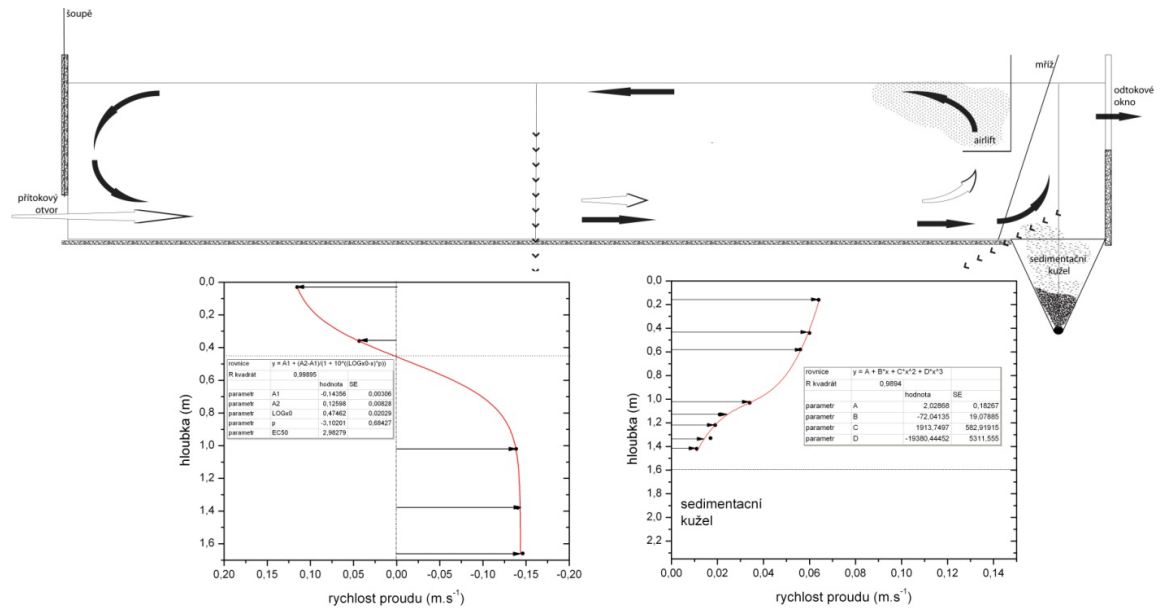
Zdrojem vody pro uvedený chovný systém je alternativně podzemní voda z vrtů, potok přitékající ze zalesněného okolí nebo voda z rybníka. Zdroje vody mají různou charakteristiku fyzikálně chemických a biologických parametrů. Nejvýznamnější rozdíl je v jejich vydatnosti, teplotě, KNK a oživení.

Systém byl dostavěn a uveden do provozu v polovině roku 2009. Po optimalizaci jednotlivých kroků technologického cyklu a zaběhnutí systému je očekává produkce tržních ryb v celém chovném systému na úrovni 50 - 100 tun ročně. Maximální produkce by podle projektu mohla dosáhnout až 100 - 120 tun tržních ryb ročně.

4.1.1 Biologický filtr

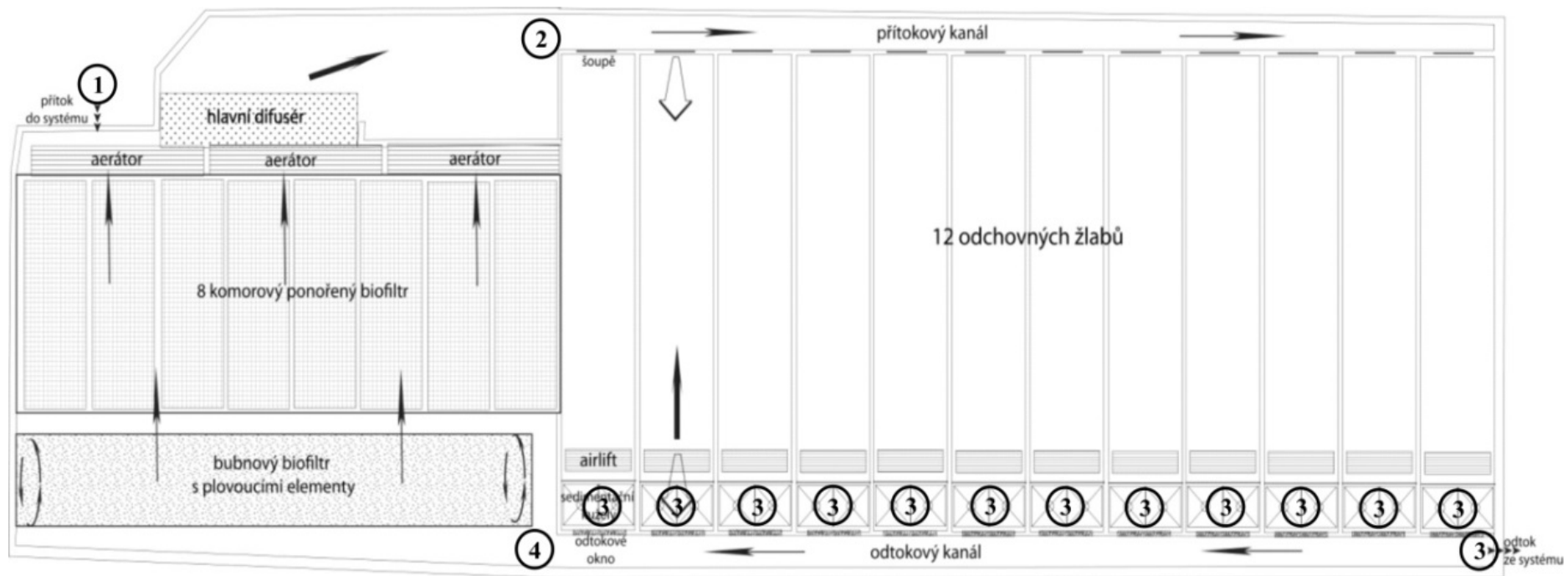
RAS Dánského typu vybudované v České republice využívají dvoustupňové technologie mechanicko-biologické filtrace složené z jednodokomorového filtru z plovoucí pohyblivou náplní a osmikomorového filtru s náplní ponořenou. Plovoucí filtr pracuje bez čištění kontinuálně. Ponořený filtr, ve kterém se usazují prakticky veškeré nerozpuštěné částice, které se neusadí v kuželech na konci odchovných žlabů, je nezbytné čistit. Každý den probíhá čištění dvou oddělení ponořeného filtru. Filtry jsou dimenzovány na produkci 120 t ryb ročně. Při krmném koeficientu (FCR) kvalitní krmné směsi (KS) 0,9 by na stávajících systémech mělo být ročně zkrmeno 108 t krmiva. To je průměrně necelých 300 kg krmiva denně. Pro odbourání amoniaku vyprodukovaného z jednoho kilogramu krmiva vneseného do systému je při teplotě 20 °C potřeba 40 – 45 m² plochy filtračních materiálů. Při každém poklesu teploty o 5 °C klesá účinnost biologické filtrace (nitrifikace) o 25 % a naopak. Optimální teplota pro chov lososovitých ryb, pro které je tento systém primárně určen, je kolem 15 °C. To po přepočtu odpovídá potřebě 50 – 56,25 m² na kg krmiva. V plovoucím i ponořeném biofiltru je dohromady celkem 60 m³ filtračního média RK-Bioelements s povrchem

750 m².m⁻³ (RK-Plast, Dánsko). Povrch filtračních médií ve filtrech je tedy 45 000 m². Bakterie narostlé na tomto povrchu by měly, při maximálním možném nasazení systému a ideální teplotě, odbourat amoniak vyprodukovaný rybami při přísunu krmiva do systému v množství 800 – 900 kg denně. Počítáme-li s průměrným množstvím krmiva podávaným rybám denně 300 kg, jsou biofiltry v Pravíkově, Žáru a Žďáru nad Sázavou 2,66 – 3x předimenzovány.



Obrázek 3. Schéma pohybu vody a rychlosti proudu v chovném žlabu (dle Vítek a kol. 2011).

Obrázek 4. Schéma systému pro chov lososovitých ryb Dánského typu v Pravíkově (Žďáru nad Sázavou) s vyznačením odběrových míst. 1- přítok, 2- přítok na žlaby, 3- systém, 4- odtok na biofiltr (Vítek *a kol.* 2011).



4.2 Měření fyzikálně chemických parametrů

V různých částech systému (viz obrázek 4) byly v závislosti na momentálních potřebách daného pokusu měřeny fyzikálně chemické parametry vody. Na místě byla měřena teplota, pH, obsah rozpuštěného kyslíku, nasycení vody kyslíkem (multimetry: CyberScan PCD 650 - Eutech Instruments, USA a následně HQ40D – HachLange, Německo) a vodivost (Combo pH&EC – Hanna instruments, USA). Voda pro chemické analýzy byla odebrána do PET odběrných lahví a následně analyzována v laboratoři oddělení rybářství a hydrobiologie na Mendelově univerzitě v Brně. Výjimkou byly 24h sledování, kdy byly rozbory vody prováděny na místě. Amonné ionty (N-NH_4^+) byly stanoveny indofenolovou metodou, dusitanový dusík (N-NO_2^-) metodou používající N-(1-naftyl)-ethylenediaminhydrochlorid, dusičnanový dusík (N-NO_3^-) metodou používající salicylan sodný, celkový dusík (NT) byl měřen s dimethylfenolem po přeměně všech forem dusíku na dusičnany metodou dle Koroleffa (komerční set firmy WTW), celkový fosfor (PT - komerční set firmy WTW) a orthofosforečnany (P-PO_4^{3-}) metodou používající kyselinu askorbovou a molybdenan amonný, kyselinová neutralizační kapacita ($\text{KNK}_{4,5}$) metodou využívající kyselinu chlorovodíkovou za indikace směsným indikátorem KNK, vápník (Ca) byl stanoven titrací pomocí EDTA, chloridové ionty (Cl^-) byly stanoveny reakcí s thiokyanatanem rtuťnatým (standardní metody APHA 1998, Horáková a kol. 2007, Pitter 2009), celkový organický uhlík (TOC) metodou založenou na převedení organického uhlíku na oxid uhličitý pomocí kyseliny sírové a peroxodisíranu (komerční set firmy WTW), chemická spotřeba kyslíku (CHSK_{Cr}) dichromanem draselným (komerční set firmy WTW), (CHSK_{Mn}) metodou využívající manganistan draselný, biologická spotřeba kyslíku (BSK_5) byla stanovena standardní ředící metodou (ČSN EN ISO 1899-2 75 7517). Od měření obsahů organických látek bylo během roku 2011 ustoupeno, protože jejich obsahy byly v systému během roku relativně vyrovnané a analýzy organických látek jsou při využití komerčních setů finančně a při použití standardních metod časově neúměrně náročné vzhledem k získaným datům. Měření rychlosti proudu bylo prováděno ultrazvukovým měřicím přístrojem dle normy ISO 748. Měření hladiny sedimentu v kuželech na základě skokové změny obsahu nerozpuštěných látek na rozhraní voda - sediment bylo prováděno pomocí sondy HT1 (Hach Lange, USA).

4.3 Stabilizace pH (alkalita = KNK) v intenzivním recirkulačním systému

Pokusy se stabilizací alkalita vody byly prováděny na systému v Pravíkově. Během pokusů byl stabilizován přítok vody do systému a byly stanoveny její fyzikálně chemické parametry. Pro stabilizaci pH (zvýšení KNK) byl použit mikromletý vápenec (95% CaCO_3). Měření pH vody bez přídavku vápence bylo provedeno jeden den a měření průběhu změn pH v systému bylo provedeno druhý den. Rozdíly teploty vody během průběhu dvou dnů měření nebyly vyšší, než 0,5 °C. Během obou dnů bylo rybám v systému podáno stejné množství stejného krmiva (Biomar EFICO Enviro 920) ve stejnou dobu a byla dodržena stejná rutina péče o biologický filtr. Na základě rozboru kvality přítokové vody, vody v systému a množství krmiva vneseného za den do systému byl v ranních hodinách před nakrmením ryb do systému dávkován vápenec (50 kg). Dále bylo měřeno pH po dobu 25 hodin. Během měření pH byly v systému měřeny i koncentrace jednotlivých forem dusíkatých látek rozpuštěných ve vodě.

4.4 Snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému

Průběh námi provedených úkonů a sledování toxicity dusitanů v systému ve své podstatě metodiku jako takovou nemá. Tato sledování vycházela z podmínek nastalých v systému při jeho prvotním záchytu a po usmrcení bakterií v biologickém filtru po neodborné aplikaci antibiotických látek do systému jeho obsluhou. Proto dále budou popsány zásahy provedené na recirkulačním systému pro zamezení úhynu ryb. Následně metodika použitá pro získání dat pro výpočet korelačních rovnic pro ověřenou technologii „Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému Dánského typu“ (Lang a kol. 2011a – v příloze).

Po prvotním nasazení systému: 21.7.2009 – 11000 ks, 28.7.2009 – 25000 ks, 5.8.2009 – 25000 ks a 20.8.2009 – 20000 ks pstruha duhového (*O. mykiss*) se od počátku srpna začala zvyšovat koncentrace dusitanového dusíku. Během tohoto období (11.8.2009 – 30.11.2009) bylo do systému dávkováno 20 kg soli (NaCl) denně (celkem 2240 kg), pro zamezení toxického působení dusitanů nahromaděných po nárůstu nitritačních bakterií v biofiltru před dostatečným namnožením bakterií nitratačních. Nejvyšší koncentrace dosahovaly dusitany na přelomu září a října (kolem 0,500 mg.l^{-1}).

Během října a na začátku listopadu došlo k postupnému ubývání dusitanů v systému a denní dávka soli byla snížena na 10 kg.

V roce 2011, po nevhodné aplikaci antibiotik ve vodném nástřiku na granulích před zaschnutím nástřiku byla vedoucím farmy usmrcena většina nitratačních bakterií v biologickém filtru v Pravíkově. Během 4 dnů po aplikaci antibiotika v systému vzrostla koncentrace dusitanů na úroveň $0,654 \text{ mg.l}^{-1}$, což při obsahu chloridů $5,93 \text{ mg.l}^{-1}$ v systému (chloridové číslo 9,07) teplotě vody $11,3 \text{ }^\circ\text{C}$. způsobilo otravu ryb dusitany (methemoglobinemii). Nasycení vody kyslíkem na odtoku z odchovných žlabů bylo 70 %. Pro zamezení úhynů ryb bylo do systému přidáno 40 kg soli. Následující den ráno byla rybám odebrána krev. Krev byla analyzována na obsah methemoglobinu. Dále byla udržována koncentrace chloridů na úrovni minimálně 25 mg.l^{-1} (40 kg soli denně) až do znovuoobnovení plné funkce biofiltru (28 dní a dalších 45 dní bylo dávkováno 20 kg soli denně).

Po této zkušenosti byla v laboratoři určena, postupným zvyšováním koncentrace soli ve vodě za současného měření vodivosti zjištěna závislost vodivosti vody na koncentraci chloridových iontů (Lang a kol. 2011a). Přesně odvážená ($\pm 0,0001$) množství soli (NaCl p.a.) byla přidávána postupně do litrové kádinky umístěné na laboratorní magnetické míchačce. Zároveň byla měřena vodivost, jejíž hodnota byla zapsána po jejím ustálení na dobu delší než 30s po každém přidání soli. Nejdříve byla pro pokus použita voda z odchovných nádrží z recirkulačního systému a posléze pro porovnání voda destilovaná. Po odečtení počáteční vodivosti vody z recirkulačního zařízení byla výsledná data statisticky porovnána a byla vypočtena regresní rovnice použitá pro vytvoření výše zmíněné ověřené technologie.

4.5 Dlouhodobá kontinuální sledování

4.5.1 24h a delší sledování fyzikálně-chemických parametrů

Během let 2010 – 2013 jsme provedli 5 čtyřadvacetihodinových a jedno šedesátihodinové sledování zaměřená na změny fyzikálně chemických parametrů vody a průběh produkce nerozpuštěných látek rybami a jejich sedimentaci během diurnálního cyklu a v závislosti na úpravě odtokového profilu. Při prvním 24 hodinovém sledování fyzikálně chemických parametrů vody jsme odebírali a analyzovali vzorky vody každou hodinu, abychom co nejpřesněji určili průběh těchto parametrů během dne v závislosti

na managementu farmy. Při dalších 24 hodinových sledováních jsme na základě nabytých zkušeností počet odběrů snížili tak, abychom hustěji pokryli období, kdy probíhají výrazné a rychlé změny v systému a naopak ušetřili práci a chemikálie v době změn minimálních. Další odběry, vzhledem ke krmení na farmě v 8:00 a 14:00, probíhaly většinou v hodinových intervalech během dne až do 18. Hodiny a posléze se intervaly prodloužily na dvouhodinové až do 6 hodiny ráno, kdy jsme přecházeli opět na hodinové intervaly.

4.5.2 Sedimentace

Během sledování dynamiky produkce nerozpuštěných látek a jejich sedimentace jsme nejdříve změřili rychlosti proudění vody v různých hloubkách/výškách nad sedimentačními kužely bez přihrazení odtokového okna z odchovných žlabů a s přihrazením těchto oken při stejném průtoku i obsádce a krmení ryb. Poté jsme do odtokového okna u dvou žlabů umístili lapač pevných částic vyrobený z uhelony o velikosti oka 40 μm , který byl při jeho zanesení, zpomalení průtoku žlabem vždy vyčištěn při současném odběru zachycených nerozpuštěných částic. Do sedimentačních kuželů byly umístěny odběrné sítky kruhového tvaru přesně zapadající do kuželu a velikostech ok 20 a 40 μm . Sítky v sedimentačních kuželech byly vybírány, při prvním sledování, každé dvě hodiny a později dvakrát za den v závislosti na zjištěné dynamice produkce výkalů rybami. Odebraný materiál byl následně přefiltrován přes husté kovové síto, dehydratován (24h při 105 °C) zvážen a analyzován. Po zjištění poměru nerozpuštěných látek sedimentujících a odtékajících do biologického filtru při použití stejného krmiva a obsádky ryb byla stejná metodika odběru použita pro porovnání dvou krmiv při stejné obsádce ryb a produkce nerozpuštěných látek rybami při různých obsádkách. Srovnání množství sedimentovaného kalu v sedimentačních kuželech přihrazených a nepřihrazených bylo srovnáváno bez ovlivnění průtoku odchovnými žlaby odběrákem v odtokovém okně pomocí sondy pro měření množství nerozpuštěných látek. Měření bylo provedeno na základě skokové změny obsahu nerozpuštěných látek na rozhraní voda – sediment. Sonda byla postupně spouštěna do sedimentačního kuželu a na úrovni skokové změny obsahu nerozpuštěných látek byla odečtena hloubka, ve které se sonda nacházela. Pro další porovnávání množství sedimentovaných výkalů během dne v závislosti na použitém krmivu byl sediment

kvantitativně odebírán v kuželech za pomoci kruhových sítí o velikosti oka 40 μm umístěných v sedimentačních kuželech.

4.5.3 Průběžná sledování změn fyzikálně-chemických parametrů během roku

Během krmných testů byl ve čtrnáctidenních intervalech sledován průběh růstu ryb i změny fyzikálně chemických parametrů vody v recirkulačním systému. Mimo testy byly vzorky vody odebírány alespoň jednou měsíčně. Fyzikálně chemické parametry byly měřeny výše zmíněnými metodami. Od listopadu roku 2012 byla na čtyři místa, tři v systému a jedno vedle systému, nainstalována záznamová zařízení (datalogger) Minikin T od firmy EMS Brno (Environmental measuring systems) pro kontinuální měření změn teploty vody a vzduchu. Datalogrery zaznamenávají každou hodinu hodnoty teploty vzduchu v okolí systému, teplotu přítokové vody a vody v přívodním a odvodním kanálu (viz obr. 1- místa č. 1; 2; 4).

4.6 Zkoumání vlivu fyzikálně-chemických vlivů na složení krve pstruha duhového (*O.mykiss*)

Pro pokus byli vybráni vždy klinicky zdraví, tržní pstruzi duhový (*O. mykiss*). Byli odebráni ze tří rybích farem od 19. listopadu 2009 do 4. srpna 2010. Celkem bylo odebráno 5 vzorků a každý vzorek byl tvořen 10 rybami. Vzorky byly odebrány na rybí farmě Pravíkov (recirkulační odchovný systém Dánského typu), Skalní mlýn (průtočný systém) a Vackův Chov pstruhů v Litomyšli (průtočný systém). Fyzikální a chemické parametry vody naměřené při odběrech viz Lang a kol. (2011b). Ryby byly krmeny komerčními krmnými směsmi EFFICO Enviro 920 od firmy Biomar (Dánsko). U každé ryby ($n = 48$) byla individuálně měřena biometrická data a počítány koeficienty poukazující na kondiční stav ryb (HSI - hepato-somatický index, F - Fultonův koeficient vyživenosti - Fulton 1904). Biometrická data viz Lang a kol. (2011b). Každá jednotlivá ryba byla před odběrem krve vyšetřena pro vyloučení ovlivnění výsledků patologickými změnami na rybách. K odběru krve byly použity pouze ryby bez patologických změn a parazitů.

Vzorek krve byl odebírán okamžitě po odlovení ryby z odchovného zařízení. Krev byla odebírána kardiální punkcí do heparinizovaných injekčních stříkaček. Odstředěná plazma byla zmrazena a uchována do provedení analýz při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Veškeré analýzy

byly vyhodnocovány statistickým programem Statistica 8.0 pro Windows (StatSoft). Další postupy viz Lang a kol. (2011b).

4.7 Ovlivnění funkce a záběhu biologického filtru

Hlavní částí ovlivnění funkce biologického filtru je stabilizace pH v systému a minimalizace přítoku organických látek. Těmto dvěma úkonům jsou věnovány kapitoly Stabilizace pH (alkalita = KNK) v intenzivním recirkulačním systému a Dlouhodobá sledování, proto dané téma nadále opustím a budu se věnovat možnostem ovlivnění záběhu biologického filtru v RAS a jeho dodatečné instalace do systému bez biologického filtru.

4.7.1 Přidaná filtrace

V roce 2012 jsme pokusně přidali do recirkulačního systému původně vybudovaného bez biologické filtrace biologický filtr. Filtr měl celkový objem 3,96 m³, což tvořilo 3,4 % objemu systému. Celková plocha filtru byla 396 m². To při 15 °C odpovídá dimenzi filtru pro odbourávání 6,6 kg krmiva denně. Filtr byl tvořen Bio-bloky. Při návštěvách zařízení byly jednou za 14 dní analyzovány vzorky vody před filtrem, za filtrem a vody přítokové.

V roce 2013 byly dokoupeny Bio-bloky do celkového objemu 8,5 m³ (7,28 % objemu systému). Teoretická kapacita na odbourání dusíku byla zvýšena na 14 kg krmiva. Před instalací filtru do systému bylo týden prováděno měření fyzikálně chemických parametrů vody. Poté byly do systému instalovány biobloky a měření pokračovalo. Biobloky vyplnily celý jeden konec odchovny, který je oddělený od odchovného prostoru pro ryby mříží. Odchovna je konstruována jako dvojče (dva žlaby vedle sebe propojené na koncích) o celkovém objemu 116,5 m³ vody, ve kterém je voda poháněna dokola dvojicí airliftů při minimálním přítoku čerstvé vody. V průběhu celého pokusu bylo na celém systému krmeno 8 kg krmiva denně.

4.7.2 Pilotní studie

Jak bylo zmíněno v úvodu, je z mého pohledu mnohem bezpečnější použít k inokulaci biologického filtru směsi bakteriálních kultur, které jsou prosté patogenů a

bakterií tvořících nežádoucí látky v systému. Vzhledem k cenám takovýchto preparátů jsem se rozhodl nejdříve provést pilotní test na trhu dostupných bakteriálních preparátů dříve, než přistoupím k jejich aplikaci do RAS o objemu kolem 1000 m³, jakým je systém v Pravíkově, Žďáru nad Sázavou, nebo Žáru. Pro tento pokus jsem použil nově vybudované recirkulační zařízení na Oddělení rybářství a hydrobiologie v budově M1 v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Jako pokusné byly použity kruhové nádrže z polypropylenu o objemu 1 m³ (5x), které byly pro daný pokus odděleny od recirkulačního systému a vybaveny identickými externími mechanicko-biologickými filtry EHEIM Professionel 3, 1200 XL naplněnými 12 litry filtrační náplně (4 l EHEIM MECH a 8 l EHEIM SUBSTRATpro). Každý filtr byl před použitím vydesinfikován chlorovým přípravkem (Savo) a důkladně propláchnut, aby v něm nezůstala rezidua desinfekce, která by mohla ovlivnit rozvoj nitrifikačních bakterií. Nádrže jsou vybaveny středovou výpustí, nad kterou je umístěn aerační disk o průměru 25 cm. Aerací bylo dosaženo dostatečného nasycení vody kyslíkem během pokusu, z vody byl odstraněn přebytečný oxid uhličitý a navíc aerace vytvářela v nádrži válcovitý pohyb vody zlepšující odvod nerozpuštěných látek z odchovné nádrže. Voda byla z filtru tlačena přes UV lampu (15W) zpět do odchovné nádrže. Dvakrát denně před krmením (8:00 a 15:00) byly v nádržích měřeny fyzikálně-chemické parametry (teplota vody, obsah a nasycení vody kyslíkem, pH, N-NH₄⁺, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ a Cl⁻). Vzorčky vody byly odebírány z nádrží. Celý pokus probíhal při průměrné teplotě vody 14,1 ± 0,3 °. Od 16. Dne experimentu bylo každý den ve 12 hodin měněno 250 l objemu vody. Zároveň s výměnou vody byly ze systému odstraněny i nerozpuštěné látky usazené v odpadním potrubí. Pro inokulaci byly, na základě svých zkušeností a dostupnosti, vybrány čtyři preparáty komerčně dostupné na trhu a jeden preparát doporučený kolegou z firmy Míča a Harašta dovezený z Irska přímo od výrobce. Všechny tyto preparáty byly primárně určeny pro použití při záběhu filtrů okrasných jezírek. Preparáty byly celkem ve třech skupenstvích a to: v pevném, kapalném a ve formě gelu. První preparát byl směsný preparát bakteriálního inokula kultivovaný ve speciálním médiu v mikrobiologické laboratoři Fakultní nemocnice Brno (tekutý, směs bakterií i kultivační metoda je v současnosti výrobním tajemstvím dodavatele - Mojmír Spurný, okrasnajeyirka.cz), druhý preparát byl Aqua REVIT od firmy EM-EKO s.r.o. (tekutý; Česká republika), třetí byl práškový preparát BFL Aqua Clean (BioFuture Ltd., Irsko), čtvrtý, práškový, preparát byl Tripond BacterienStarter (Aqualogistik GmbH, Německo) a pátým preparátem byl gelový preparát PL Gel – Filter Pad Bacterial Inoculant

(Ecological Laboratories, Inc., USA). Všechny preparáty byly použity podle návodu výrobce. Bioaugmentace byla provedena 3 dny před nasazením ryb do nádrží a bakterie byly „nakrmeny“ chloridem amonným v koncentraci 2 mg.l^{-1} , aby bylo docíleno co nejlepšího rozvoje chemolithoautotrofních bakterií před nasazením ryb do systému. Jako zdroj amoniaku a pro co největší přiblížení se podmínkám chovného recirkulačního systému, byli do systému třetí den nasazeni pstruzi duhový (*O. mykiss*) o průměrné váze $3,26 \pm 0,26 \text{ g}$ o celkové hmotnosti $1000 \pm 2 \text{ g}$ do každé pokusné nádrže. Ryby byly během pokusu krmeny dvakrát denně krmivem Biomar INICIO 917 o velikosti 1,1 mm a poměru živin 50:16 – dusíkaté látky:tuk. Krmná dávka byla stanovena na 3% hmotnosti obsádky. Délka testu byla 68 dní. Test probíhal do doby, než se stabilizovala kvalita vody vytékající z biofiltru.

4.7.3 Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu

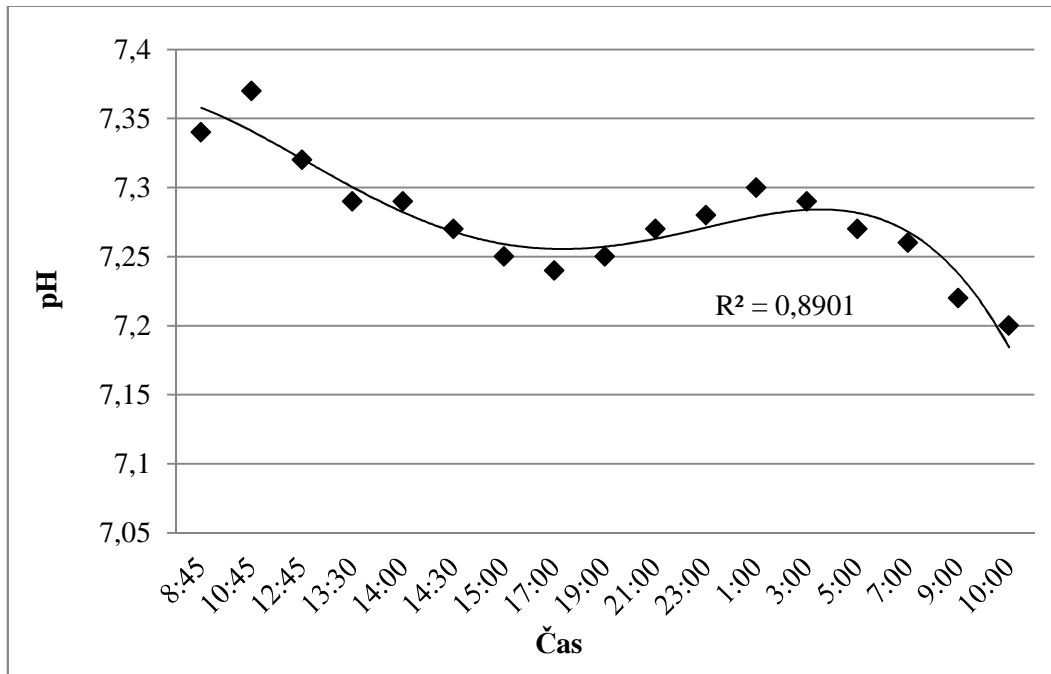
Záběh biofiltru s pomocí bioaugmentace byl proveden ve Žďáru nad Sázavou při prvotním spuštění RAS Dánského typu. Pro snížení nákladů na záběh biofiltru byla inokulována pouze polovina (4/8) ponořeného filtru a filtr plovoucí. Zároveň byla zastavena cirkulace vody v systému, aby se snížila spotřeba chloridu amonného, který sloužil během pokusu jako zdroj amonných iontů, „krmivo,“ pro bakterie. Dostatečné množství kyslíku pro bakterie bylo během pokusu zajištěno vzduchováním pomocí standardního potrubí ve filtru plovoucím a potrubím pro čištění filtru ve čtyřech odděleních filtru ponořeného. Do filtru bylo vneseno inokulum v tekuté formě, přidán chlorid amonný v množství $1,5 - 2,5 \text{ mg.l}^{-1}$, zapnuto vzduchování a po dobu 17 dní byly měřeny změny obsahu jednotlivých forem dusíkatých látek v inokulovaných odděleních biofiltru. Při poklesu obsahu amonných iontů byl přidán chlorid amonný pro opětovné dosažení koncentrace kolem 2 mg.l^{-1} (Lang a kol. 2014).

5 VÝSLEDKY

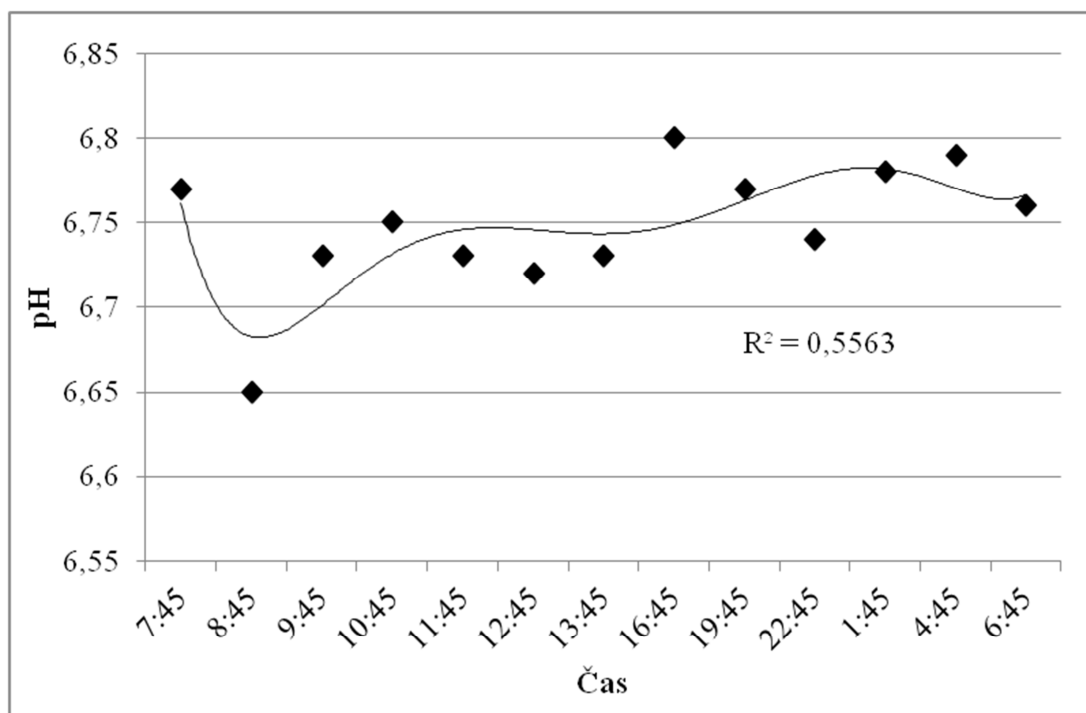
5.1 Stabilizace pH (alkalita = KNK) v intenzivním recirkulačním systému

Po přidání 50 kg mikromletého vápence (8:45) do systému vzrostlo pH v systému na úroveň až 7,35 a KNK převyšovalo 1 mmol.l^{-1} , pH v systému posléze po celý den

pomalu klesalo na úroveň 7,2 (Lang a kol. 2011a). Během dne po aplikaci vápence se vyskytly dvě období zvyšování pH. První po aplikaci vápence a druhé, v nočních a ranních hodinách (Obrázek 5). V grafu na obrázku 6 je znázorněn průběh pH během dne při $KNK\ 0,3\ \text{mmol.l}^{-1}$.



Obrázek 5: Průběh změn pH v systému během dne v závislosti na vyplavování vápence a metabolismu ryb.



Obrázek 6: Průběh změn pH v systému během dne při $KNK\ 0,3\ \text{mmol.l}^{-1}$.

5.2 Snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému

Během průběhu otravy měly ryby výrazně hnědá žábra, byly apatické, nepřijímaly potravu a vykazovaly příznaky dušení. Analýza obsahu methemoglobinu v krvi ryb z odběru z rána následujícího dne ukázala obsah methemoglobinu u jednotlivých ryb v rozmezí od 24 – 35% celkového hemoglobinu.

5.3 Dlouhodobá kontinuální sledování fyzikálně chemických parametrů, sedimentace a produkce výkalů rybami

5.3.1 Změny fyzikálně-chemických parametrů během 24 hodin

Během 24 hodinových sledování byly zjištěny podstatné změny v obsahu amoniakálního dusíku, pH a obsahu kyslíku a to nejvíce v prvních pěti hodinách po ranním krmení ryb. Odpolední krmení vyvolalo o téměř 40 % menší změny sledovaných parametrů. Míra intenzity změn zmíněných parametrů vody byla ovlivněna i hustotou obsádky ryb ve žlabu, při stejném průtoku, ale jako statisticky významné se prokázaly pouze rozdíly mezi žlaby s 6 a 12 tisíci kusy ryb. Mezi 6 a 8 nebo 8 a 12 tisíci kusy ryb v odchovném žlabu statisticky průkazný rozdíl nebyl pozorován (Lang a kol. 2010). Při sledování změn fyzikálně-chemických parametrů vody při průchodu biofiltrem během dne a během roku jsme naměřili hodnoty (před, resp. za filtrem): N-NH_4^+ 0,00 – 1,35 resp. 0,00 – 1,03 mg.l^{-1} , N-NO_2^- 0,000 – 0,654 resp. 0,000 – 0,648 mg.l^{-1} , pH 6,00 – 7,43, Cl^- 3 – 26 (110) mg.l^{-1} . Účinnost filtrace amonných iontů se pohybovala od -10 (v době náběhu biofiltru po jeho usmrcení antibiotiky) do 25 % při nejvyšší míře nasazení a intenzitě krmení a nejnižším přítoku, zároveň s přidavkem mikromletého vápence pro stabilizaci pH v systému na úrovni převyšující 7,3. V době prvotního záběhu biofiltru (8. – 10. měsíc 2009) a po usmrcení bakterií druhé fáze nitrifikace (5. – 6. měsíc 2011) byla bilance účinnosti filtrace dusitanového dusíku záporná. Během 24h sledování změn fyzikálně-chemických parametrů jsme rovněž narazili na fenomén zvýšení obsahu amonných iontů v recirkulačním systému mezi první a třetí hodinou ranní. Tento nárůst obsahu amoniaku je nezávislý na ročním období, respektive teplotě vody. Byl rovněž pozorován nejen v recirkulačním systému, ale i v přítokové vodě, která nebyla, a není, zatížena obsádkou ryb. Kromně amonných iontů jsme během 24h sledování analyzovali i změny obsahu dusitanového dusíku.

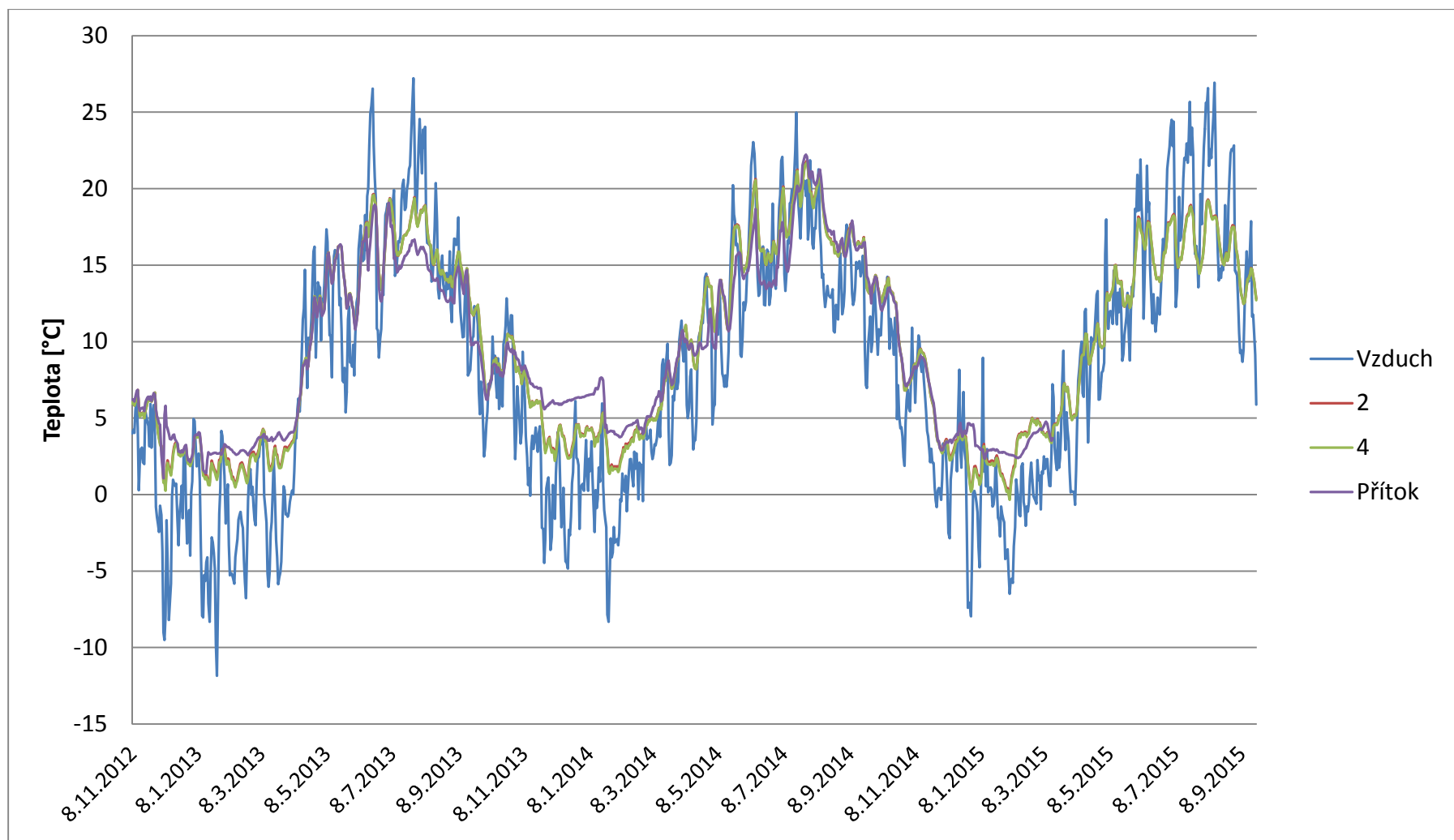
Křivky obsahu dusitanového dusíku s drobným zpožděním, v závislosti na teplotě, kopírovaly změny obsahu amonných iontů.

5.3.2 Průběžné sledování fyzikálně-chemických parametrů během roku

V průběhu krmných testů prováděných na farmě v Pravíkově jsme pozorovali změny fyzikálně chemických parametrů nevybočující z rozmezí zmíněného v kapitole 5.3.1 Fyzikálně chemické parametry. Teploty vody se pohybovaly od -0,5 (4.2.2015 od 5:00 do 11:00) do 22,1 °C (30.7.2014 od 16:00 do 17:00). Teploty od 18 do 22 °C se v roce 2014 v RAS vyskytovaly od 16. 7 do 16.8. Průměrné roční teploty v systému byly za roky 2014; 2014 a 2015 (do srpna) 9,06; 10,77 a 10,53. Průměrné teploty za jednotlivé měsíce (minimum – maximum) v letech 2012 (od 8.11.); 2013; 2014 a 2015 (do 22.9.) zobrazuje tabulka 6. Průběhy změn teplot vody a vzduchu od listopadu 2012 do září 2015 zobrazuje graf na obrázku 7.

Tabulka 6: *Průměrné teploty vody v RAS v Pravíkově na odtoku vody do biologického filtru (místo č. 4 - viz obr. 3).*

| měsíc/rok | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|-----------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Leden | | 2,11 (0,23-4,02) | 3,57 (1,23-5,58) | 1,68 (0,36-3,53) |
| Únor | | 1,63 (0,31-3,10) | 3,09 (1,31-4,63) | 2,99 (-0,51-5,22) |
| Březen | | 2,63 (1,07-4,56) | 6,24 (3,81-9,20) | 4,86 (3,17-7,61) |
| Duben | | 7,28 (2,61-13,61) | 10,65 (7,58-14,56) | 8,31 (4,51-11,82) |
| Květen | | 14,12 (11,43-16,96) | 13,82 (10,02-17,98) | 12,86 (9,22-15,64) |
| Červen | | 15,53 (10,79-20,20) | 16,51 (14,00-21,00) | 16,02 (13,18-18,78) |
| Červenec | | 17,41 (14,64-19,86) | 18,97 (15,26-22,02) | 16,88 (14,05-19,37) |
| Srpen | | 16,05 (13,51-19,32) | 17,99 (15,08-21,36) | 16,87 (14,23-19,61) |
| Září | | 13,32 (9,22-16,26) | 15,71 (12,84-17,91) | 14,30 (12,28-17,73) |
| Říjen | | 8,56 (5,92-10,79) | 11,84 (6,66-14,54) | |
| Listopad | 5,91 (4,81-6,99) | 6,20 (2,59-8,51) | 7,34 (3,23-9,56) | |
| Prosinec | 2,45 (-0,10-5,02) | 3,40 (2,10-4,69) | 2,85 (0,05-4,74) | |



Obrázek 7: Graf průběhu změn průměrných denních teplot vzduchu a vody na RAS v Pravíkově (9.11.2012 – 22.9.2015).

(čísla 2 a 4 označují místa měření, viz obrázek 3 – přítokový žlab a odtokový žlab)

5.3.3 Sedimentace

Při testování vlivu zvýšení přelivové hrany (částečného přistavení dlužemi) v odtokovém okně na intenzitu sedimentace jsme zjistili markantní rozdíl ve prospěch volného okna (vrstva sedimentu 14-21 cm oproti 1-15 cm při zahrazení), a to zejména ve variantách s menšími rybami.

Nad sedimentačními kužely jsme změřili nejnižší rychlost proudu v celém systému. Ta je ovšem ovlivňována přítokem do žlabu. Měření byla prováděna opakovaně v březnu a srpnu 2010. Při vysokém přítoku 60 l.s^{-1} jsme naměřili v profilu 10 - 60 cm nad sedimentačním kuželem rychlost proudu $1 - 4,7 \text{ cm.s}^{-1}$. při průtoku 25 l.s^{-1} je pak rychlost proudu do výšky 50 cm nad kuželem $1 - 4 \text{ cm.s}^{-1}$. Od výšky 50 cm nad sedimentačním kuželem se rychlost proudu směrem k odtokovému oknu výrazně zvyšuje. Další snižování průtoku odchovnám žlabem již rychlosti proudu nad sedimentačním kuželem, ani sedimentaci již neovlivnilo.

Dále jsme testovali kvalitu sedimentu. Zjistili jsme, že kvalita sedimentu je při použití daného druhu krmiva poměrně vyrovnaná ($8,92 \pm 1,41 \%$ - Biomar). Kvantitativními odběry sítkami ze sedimentačních kuželů a odběrákem v odtokovém okně jsme zjistili, že poměr nerozpuštěných látek, které sedimentují a látek které odtékají do filtru je přibližně 60 ku 40 % a nemění se při použití jiného krmiva (Biomar x Aller Aqua). Sušina nerozpuštěných látek, které nesedimentují, kolísá kolem hodnoty $3,7 \pm 1,6 \%$. Rozdíl mezi výtěžností sedimentu u sítěk o velikostech ok 20 a 40 μm pro odběr sedimentu ze sedimentačních kuželů nebyl průkazný. Při častých odběrech sedimentu z kuželů během dne jsme zjistili, že největší množství výkalů lososovité ryby vyloučí do dvou hodin po ranním krmení (cca 55 %). Při testování množství usazených nerozpuštěných částic jsme zjistili, že při stejném množství krmiva podaném stejně velkým rybám, ryby po krmení krmivem Aller Gold vyprodukovaly přibližně o 15 % více nerozpuštěných částic, než u krmiva Biomar. To bylo stejné jak s použitím odběráku v odtokovém okně, tak bez něj. Při kvantitativním odběru nerozpuštěných částic ze sedimentačních kuželů v závislosti na různých obsádkách ryb jsme při vysokých obsádkách zjistili výraznou nevyrovnanost množství usazených částic v poměru k množství ryb v odchovném žlabu při jejich ekvivalentním krmení. Hmotnost sušiny výkalů v jednom sedimentačním žlabu se pohybuje mezi 20 – 85 g za 24 hodin.

5.4 Zkoumání vlivu fyzikálně-chemických parametrů na hodnoty vybraných parametrů krve pstruha duhového

U většiny iontů, kromě železa a fosforu, byla prokázána poměrně nízká variabilita mezi jednotlivými odběry krve ryb i systémy. Hodnoty obsahu vápníku prokazatelně rostly se zvyšující se hmotností ryb na rozdíl od obsahu chloridů, jejichž hodnoty s rostoucí hmotností ryb klesaly. Nebyl prokázán vliv fyzikálně-chemických parametrů na obsah sodíku (Na) v krevní plasmě ryb. Minimální vliv měly fyzikálně-chemické parametry vody i na obsah fosforu. Železo a vápník vykazovaly nejvyšší hodnoty v červenci a srpnu a nejnižší v březnu a listopadu. Vyšší pH způsobilo nárůst obsahu vápníku a pokles obsahu chloridů v krvi. Naopak vyšší nasycení vody kyslíkem způsobilo nárůst obsahu chloridů a pokles obsahu vápníku a železa. Fyzikálně-chemické parametry vody měly nejvyšší vliv na obsah hořčíku v krevní plasmě pstruha duhového (*O.mykiss*). Zvýšený obsah organického zatížení a železa ve vodě způsobil prokazatelný nárůst obsahu hořčíku v krevní plasmě pstruhů. Naproti tomu vyšší kyselinová neutralizační kapacita (KNK), vodivost a vyšší hodnoty celkového dusíku, síranů, sodíku, hořčíku a vápníku ve vodě obsah hořčíku v krevní plasmě snížily. Vyšší obsah hořčíku, chloridů, síranů, sodíku a vyšší teplota vody snížily obsah vápníku v krevní plasmě pstruhů. Vyšší obsah fosforu a kyslíku ve vodě zvýšil obsah chloridů v krevní plasmě. Vyšší hodnota pH, obsah síranů, dusíku, chloridů a hořčíku ve vodě obsah chloridů v krevní plasmě pstruha duhového (*O.mykiss*) snížily (Kopp a kol. 2011, Lang a kol. 2011b). Obsah vápníku a fosforu v plasmě ryb dosahoval nejvyšších hodnot v létě, kdy ryby přijímají nejvíce krmiva, což bylo potvrzeno i našimi výsledky. Rozdíl mezi průtočným a recirkulačním systémem ve vlivu na vnitřní prostředí ryb nebyl potvrzen.

5.5 Ovlivnění funkce a záběhu biologického filtru

5.5.1 Přidaná filtrace

Během měření před instalací dosahovaly hodnoty koncentrací dusíkatých látek relativně vysokých hodnot, které by při rozkolísání pH mohly znamenat i otravu ryb amoniakem (N-NH_4^+ 0,57 mg.l^{-1} ; N-NO_2^- 0,251 mg.l^{-1} ; N-NO_3^- 6,67 mg.l^{-1}) Obsah kyslíku v systému zároveň klesal až na úroveň 86,5 % nasycení. Po instalaci

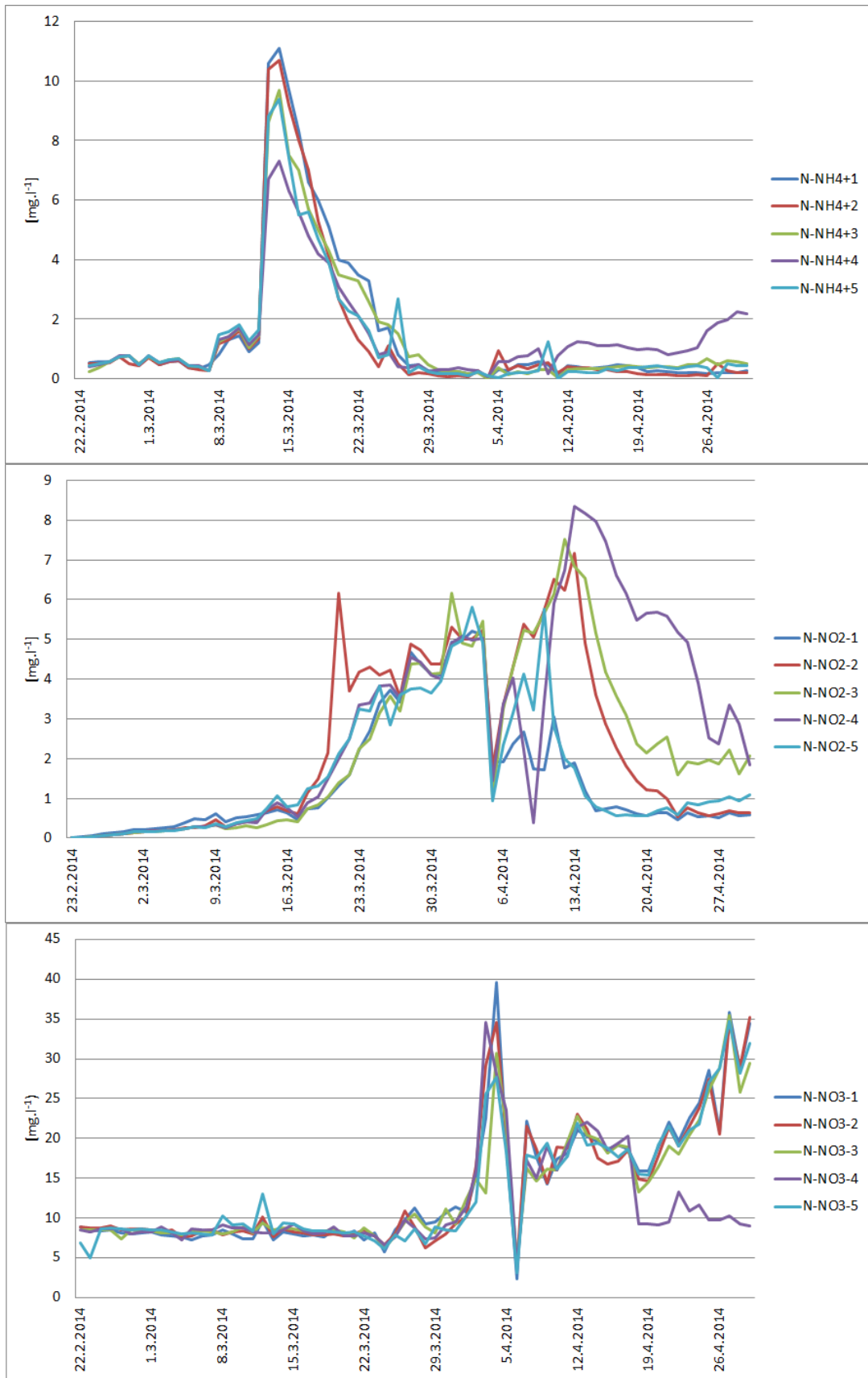
biologického filtru během 14 dnů klesla koncentrace amoniaku v systému na téměř šestinásobek původní koncentrace ($0,10 \text{ mg.l}^{-1}$) při zdvojnásobení koncentrace dusitanů ($0,450 \text{ mg.l}^{-1}$). Během dalších pěti dní nastal pokles obsahu N-NO_2^- na úroveň $0,150 \text{ mg.l}^{-1}$. Tato koncentrace dusitanů se v systému držela až do čištění biologického filtru (vytažení ze systému a propláchnutí velkým množstvím vody), kdy, po opětovné instalaci biofiltru, nastal krátkodobý nárůst obsahu dusitanů v systému s maximem na úrovni $0,410 \text{ mg.l}^{-1}$. Toto období trvalo 6 dní a poté koncentrace N-NO_2^- opět klesla. Nárůst obsahu amoniakových iontů trval také 6 dní, ale zdaleka nedosáhl významu nárůstu obsahu dusitanů ($0,30 \text{ mg.l}^{-1}$ – max.). Při následném vážení ryby dosáhly o 10 % vyššího přírůstku hmotnosti, než v předchozím období.

5.5.2 Pilotní pokus

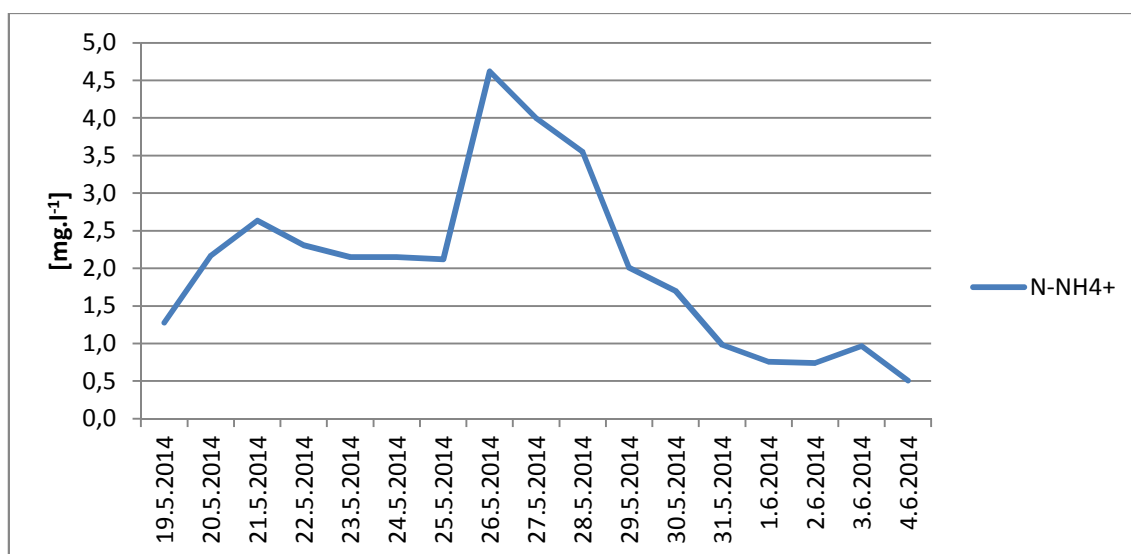
V počáteční fázi pilotní studie se jevilo všech pět variant inokula vyrovnaně, ale 15. den testu se ze dne na den a ve všech nádržích zdvojnásobil obsah amoniaku. Další den, i po výměně poloviny vody obsah amoniaku opět stoupl na dvojnásobek, poté se držel 3 dny přibližně na stejné hodnotě, aby se posléze jeho koncentrace přes noc zešestinásobila na $11,1 \text{ mg.l}^{-1}$. Zajímavostí je, že pík v koncentraci amoniakových iontů nekorespondoval ani se změnou krmění, ani žádného jiného parametru v systému a byl poměrně krátký. Byl následován nárůstem obsahu dusitanů zpožděným o 14 dní a jejich pomalým poklesem během následujících 30 dní spojeným s nárůstem množství dusičnanů v systému. Oproti předpokladům, se kterými byl test zakládán, se rozdíly mezi jednotlivými inokuly projeví až v poslední třetině testu. Jako nejvhodnější inokulum z hlediska efektivity, ceny a dostupnosti ukázalo tekuté inokulum kultivované před použitím od firmy Mojmir Spurný. O málo horší parametry měla inokula, v pořadí za sebou, Aqua REVIT; PL Gel – Filter Pad Bacterial Inoculant; BFL Aqua Clean. Jako naprosto nevyhovující se začalo jevit inokulum Tripod Bacterien Starter. Průběhy vývoje koncentrací jednotlivých dusíkatých látek během testu zobrazují grafy na obrázku 8.

5.5.3 Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu

Nasycení vody kyslíkem v biofiltrech neklesalo pod 85%. To při teplotách od 9,7 do 15,7°C zajistilo dostatek kyslíku pro růst a metabolismus aerobní populace nitrifikačních bakterií. Reakce vody dosahovala v první fázi hodnot pH (6,7) 7,3 – 7,5. Na konci druhé fáze až 8,0. Toto vysoké pH na počátku třetí fáze převažovalo. Během této fáze byly na rybách pozorovány příznaky a laboratorně byla ověřena jejich intoxikace amoniakem. Po postupném snížení pH vody v systému přidavkem 36% HCl, z 8,0 na 7,0 během 24 hodin, příznaky otravy ryb amoniakem odezněly. Po čtyřdenním snižování pH pomocí HCl se intenzita funkce biologického filtru zvýšila natolik, že byl systém schopen potřebnou hodnotu pH, s přispěním metabolismu ryb, nadále udržovat samostatně. Obsah amonných iontů v první fázi pokusu klesal pomalu a byl třikrát navýšen přidavkem chloridu amonného (graf na obrázku 9). Ve druhé fázi klesal obsah amonných iontů v systému plynule. Po nasazení prvních ryb došlo nepatrnému výkyvu tohoto trendu. Ve třetí fázi, po nasazení ryb během dvou dnů na počátku jejich intenzivního krmení a zapojení dalších pěti doposud nepoužívaných odchovných žlabů do recirkulace, došlo v RAS ke zvýšení pH, a tím obsahu toxického a intoxikaci ryb amoniakem (viz výše). Průběh obsahu chemických látek v této době nebyl sledován z důvodu nedostupnosti chemikálií až do 9.7., kdy byl obsah amonných iontů již minimální (0,3 mg.l⁻¹) a dále klesal na nedetekovatelnou hladinu. Reakce vody byla ustálena na 7,0. Intoxikace amoniakem byla potvrzena veterinárním vyšetřením. Obsah dusitanového dusíku v první fázi pokusu pomalu vzrůstal. Na počátku druhé fáze klesal a dále došlo ke zvýšení jejich obsahu po nasazení většího množství ryb. Obsah dusičnanového dusíku v inokulovaných částech systému postupně narůstal z počáteční hodnoty 10,0 na 13,1 mg.l⁻¹ 24.5. Poté, po naředění vody v systému klesl na 8,6 mg.l⁻¹ a až do počátku druhé fáze pokusu (spuštění recirkulace) plynule narůstal. Ve druhé fázi obsah dusičnanového dusíku v systému kolísal v rozsahu 8,2 – 10,7. To bylo zřejmě způsobeno kolísáním intenzity fotosyntézy vláknitých řas, jejichž biomasa v neaktivní části systému (s minimální výměnou a pohybem vody) intenzivně narostla. Řasy narostlé v systému zřejmě způsobily i nárůst pH v nesledovaném období 5.6. – 9.7. a intoxikaci ryb amoniakem.



Obrázek 8: Průběh změn obsahů dusíkatých látek během pilotního pokusu záběhu biofiltrů.



Obrázek 9: Průběh obsahu amonných iontů v RAS dánského typu ve Žďáru nad Sázavou během záběhu (2014).

Kkřížkem jsou označeny aplikace chloridu amonného.

6 DISKUSE

6.1 Stabilizace pH = Alkalita

První nárůst pH na začátku měření indikoval rozpouštění přidaného vápence. Druhé zvýšení pH indikovalo vyublávání CO₂ ze systému pomocí difuserů po poklesu intenzity metabolismu ryb. To odpovídá i pozorováním ostatních autorů v literatuře (Cai a Summerfelt, 1992, Iftikar a kol. 2008, Romero a kol. 2006). Další pokles pH je způsoben vyplavováním vápence ze systému (snižovala se samozřejmě i hodnota KNK). Tento průběh znázorňuje graf na obrázku 4. Graf na obrázku 5 znázorňuje změny pH v systému během dne při KNK 0,3 mmol.l⁻¹. Do systému bylo ten den nadávkováno jen 8 kg mikromletého vápence pomocí krmítka s hodinovým strojkem od 8:00 do 18:00 hodin. Prvotní pokles pH, i přes dávkování vápence, je způsoben jeho zachycením ve, v té době (odkalování), vypnuté části biofiltru s plovoucí náplní. Následný nárůst pH je způsoben jeho spuštěním a jednorázovou dotací většího množství vápence do systému (cca 1 kg). Vzestup pH přes noc a ráno způsobilo vyublání CO₂ z vody pomocí difuserů. Na základě výše zmíněných pozorování byla vytvořena metodika R02: Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v

recirkulačním systému Dánského typu. Tato metodika jednoduchým způsobem prakticky popisuje výpočet dávky mikromletého vápence, kterou je nutno do systému přidat pro udržení stabilního pH na základě znalosti KNK přítokové vody a intenzity jejího přítoku. Díky simultánnímu měření obsahů jednotlivých forem dusíkatých látek rozpuštěných ve vodě v přítoku, před a za biofiltrem jsme zároveň zjistili, že při pH nižším v průměru o 0,6 byla účinnost biofiltru o 4% nižší.

6.2 Snížení toxicity dusitanů

Dle běžné rychlosti odbourávání methemoglobinu v těle ryb se dá usuzovat na jeho obsah v krvi ryb předchozí den, který by se pohyboval na úrovni vyšší, než 50 % a tím při daných podmínkách (nasyčení vody kyslíkem pod úrovní 70 %) na hranici letální koncentrace (Huey a kol 1980, Jensen 2003, Knudsen and Jensen 1997, Svobodová a kol. 2015, Zusková a kol. 2013).

Postupným přidáváním NaCl do vody destilované i odchovné byla zjištěna lineární regrese mezi obsahem chloridů ve vodě a vodivostí. Z této regrese byla odvozena metodika pro jednoduchou kontrolu množství chloridů v systému odvozená ze znalosti jejich koncentrace v přítokové vodě a měření vodivosti, které je mnohem jednodušší, rychlejší a levnější, než chemické rozborů vody (Lang a kol. 2011a).

6.3 Dlouhodobá kontinuální sledování fyzikálně chemických parametrů, sedimentace a produkce výkalů rybami

6.3.1 24h a delší sledování změn obsahu dusíkatých látek v RAS dánského typu

Naše pozorování v rámci 24h a delších sledování se více, či méně shodují s pozorováním ostatních autorů. Díaz a kol. 2012 pozorovali nárůst obsahu amonných iontů v recirkulačním systému pro chov mořského cejna (*Spharus aurata*) a okouníka mořského (*Dicentrarchus labrax*). Na rozdíl od našich pozorování zjistili postupný nárůst obsahu amonných iontů v systému rovnoměrně po dobu osmi hodin a jejich následný pomalý pokles během noci. Stejný průběh u okouníka mořského pozorovali i Engin a kol. 2012, V našem případě se jednalo o výrazný nárůst obsahu amonných iontů v systému po dobu asi 4 – 6 hodin po ranním krmení (dle teploty), posléze mírný nárůst po odpoledním krmení s postupným poklesem přes noc. Tento byl ale přerušen cca

dvouhodinovým intervalem nárůstu obsahu amonných iontů v systému i přítokové vodě mezi jednou a třetí hodinou ranní. Podobný průběh pozorovali u pstruha duhového (*O. mykiss*) Pedersen a kol. 2012 i s píkem obsahu amonných iontů kolem jedné hodiny ranní. Pedersen a kol. 2012 ovšem krmili ryby průběžně po dobu 6 hodin a ne ve dvou krmných dávkách, jako v našem případě. Krmná strategie výrazně ovlivňuje fluktuace v denní produkci amoniaku rybami (Gélineau a kol. 1998, Yager a Summerfelt 1994, Zakeš a kol. 2006). Liu a kol. 2009 pozorovali shodně maximální nárůst amonných iontů v RAS s chovem hybridního okouna (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*), ovšem bez výše zmíněného píku.

Křivky obsahu dusitanů při fungujícím biofiltru podle očekávání se zpožděním ovlivněným teplotou vody kopírovaly změny obsahu amonných iontů. Při vyšší teplotě vody bylo zpoždění odbourávání dusitanového dusíku v systému kratší.

6.3.2 Průběžné sledování během fyzikálně chemických parametrů v RAS dánského typu během roku

Při měřeních fyzikálně chemických parametrů vody a zjišťování růstu ryb v krmných testech provedených na RAS v Pravíkově jsme zjistili, že změny chemismu vody v průběhu roku nejsou příliš výrazné, až na obsah rozpuštěných sloučenin fosforu. Aktivita biofiltru se plynule přizpůsobuje změnám teploty vody. Při snížení teploty vody pod optimální teplotu pro chov lososovitých ryb adekvátně klesá doporučená krmná dávka. Z tohoto důvodu a díky tomu, že povrch filtračních materiálů odpovídá jeho schopnosti odbourání amoniaku vzniklého z minimálně dvojnásobku maximální plánované denní krmné dávky, biofiltr bez problému zvládá dané zatížení. To ale platí pouze, pokud není jeho funkce omezena špatným managementem farmy, nebo použitím antibiotik. Hlavním faktorem, který ovlivňuje funkci recirkulačního systému, krom chemických parametrů je teplota, která u otevřeného systému (bez zastřešení) během roku poměrně výrazně kolísá. Rozdíly teploty v průběhu dne většinou nepřesahují hranici 1,5 °C a probíhají, na rozdíl od změn teploty vzduchu v okolí RAS, plynule. Průměrné teploty v jednotlivých měsících se však často výrazně liší od optimálních teplot pro chov lososovitých ryb, pro které je systém primárně určen (viz tab. 6 a graf na obrázku 7). Z našich měření vyplývá, že, pokud budeme za optimální rozmezí teplot pro chov lososovitých ryb považovat teploty od 14 do 18 °C (Antilla a kol. 2013 Benfey 1996, Bidgood 1980, Bregnballe 2010, Cocherell a kol. 2014, Hartman a Porto 2014,

Hunt von Herbing a kol. 2015, Larsson 2005 Ojolick a kol. 1995, Rodgers a Griffiths 1983), je v systému 8 měsíců v roce teplota nevyhovující optimálnímu růstu a konverzi krmiva lososovitých ryb (Amin a kol. 2014). Tato skutečnost naprosto jasně ukazuje, že stavět v klimatických podmínkách České republiky recirkulační systémy bez izolovaného zastřešení je ekonomicky naprosto nevyhovující. Projekty dánského typu farem počítají se dvěma „obrátkami“ výkrmového cyklu za rok, aby byly ekonomicky rentabilní. Při teplotních podmínkách, kdy v létě teplotní a hlavně kyslíkové poměry omezují možnost krmení ryb a tím jejich růst a v zimě ryby nepřirůstají, díky zpomalení metabolismu při nízké teplotě vody, je docílení zdravé ekonomiky chovu, bez podpory výzkumných projektů, téměř nedosažitelné. Časté změny teploty vody a její výkyvy v průběhu roku na ryby rovněž působí jako chronický stres a tím zvyšují jejich vnímavost vůči nemocem a parazitům (Palíková a kol. 2014).

6.3.3 Sedimentace

Naměřené rychlosti sedimentace nad sedimentačními kužely by podle literatury (Huggins a kol. 2005) měly odpovídat efektivitě sedimentace až 75 % nerozpůštěných látek vyprodukovaných v odchovných žlabech. Tato hodnota je však pouze teoretická. Naše výsledky se téměř shodují s výsledky autorů z Francie (d'Orbcastel a kol. 2009 - 60 % \pm 28 % sedimentovaných látek ku 40 % odtékajících). Námi naměřené hodnoty dosahovaly při použití krmiva Biomar výrazně nižší variability \pm 18 %. Rozdíl v námi naměřených hodnotách od hodnot teoretických (Huggins a kol. 2005) bude zřejmě způsoben přítomností ryb nad sedimentačním kuželem, které svým pohybem mohly určitou část sedimentu rozvířit, nebo minimálně zabránit jeho sedimentaci. Nižší variabilita mohla být ovlivněna kvalitou použitého krmení, čemuž napovídají i rozdílná množství nerozpůštěných látek vyprodukovaných rybami při použití různých druhů krmiv.

Vzhledem k výrazně většímu množství sedimentu usazeného v sedimentačních kuželech bez použití přihrazení odtokového okna přihrazovat odtokové okno nedoporučujeme.

6.4 Vliv fyzikálně-chemických parametrů na složení krve pstruha duhového (*O.mykiss*)

Historické údaje o hodnotách parametrů krevní plasmy ryb, stanovované bez využití automatických analyzátorů, nelze běžně srovnávat s hodnotami dosaženými za využití moderních přístrojů. Naše výsledky jsou tak porovnatelné pouze s pracemi, ve kterých byl pro analýzu krevní plasmy použit automatický analyzátor. Rozsáhlý výzkum normálních hodnot biochemie krevní plasmy pstruha duhového (*O.mykiss*) provedli Manera a Britti (2006). Vzhledem k velké variabilitě ukazatelů krevní plazmy, jsou jejich výsledky v některých případech mírně odlišné od námi dosažených hodnot.

Námi provedené analýzy určily hodnoty vápníku a hořčíku na stejné úrovni, jaká je zmíněna v literatuře (Manera a Britti 2006, Meka a McCormick 2005, Řehulka a Minařík 2001; 2008, Řehulka a Párová 2000a, 2000b, Velíšek *a kol.* 2008, Velíšek *a kol.* 2009). Hodnoty fosforu, železa, sodíku, draslíku a chloridů se pohybovaly na úrovni horních a dolních hranic intervalů zmíněných v literatuře (Manera a Britti 2006, Řehulka a Párová 2000a, 2000b, Velíšek *a kol.* 2008; 2009). Po porovnání naměřených hodnot, můžeme konstatovat, že hodnoty obsahu iontů v krevní plasmě pstruha duhového (*O.mykiss*) jsou ovlivněny mnoha metodickými i individuálními faktory. Dle zjištěných hodnot v porovnání s literaturou můžeme vyloučit působení patologických vlivů působících na ryby během našeho výzkumu. V literatuře jsme nenašli zmínku o normálních hodnotách obsahu několika námi analyzovaných iontů (Cl, Fe). Při naší práci jsme zjistili nové informace o normálních hodnotách obsahu iontů v krevní plasmě zdravých pstruhů duhových (*O.mykiss*) chovaných v podmínkách intenzivní akvakultury.

6.5 Funkce biofiltru

6.5.1 Přidaná filtrace

Při první pokusu o přidání biologické filtrace byla kapacita filtrace nedostatečná. V systému sice poklesla koncentrace amonných iontů, ale nevýrazně, zato došlo k výraznému nárůstu obsahu dusitanů, který přetrvával. Po zvýšení kapacity filtrace na více, než dvojnásobek tato filtrační jednotka již zajišťuje v systému poměrně stabilní prostředí. Bez této přidané filtrace by po současném přechodu na výhradní využití

podzemní vody a podstatným smížením průtoku vody systémem měla obchodní jednotka ani ne poloviční kapacitu. V literatuře se mi nepodařilo najít práci, se kterou by mohl být tento pokus porovnán.

6.5.2 Pilotní pokus

Během pilotního pokusu záznamu biologické filtrace na experimentálním zařízení Mendelovy university v Brně byla ověřena funkčnost pěti zvolených bakteriálních přípravků určených pro zrychlení záznamu biologické filtrace. Z pěti testovaných preparátů vykazovaly tři přibližně stejné vlastnosti (přípravek firmy Mojmír Spurný; Aqua REVIT; PL Gel – Filter Pad Bacterial Inoculant), jeden byl neprůkazně horší (BFL Aqua Clean) a jeden se jevil jako nefunkční (Tripond Bakterienstarter - do konce testu nedošlo k nastartování řádné nitrifikace). Během první fáze záznamu biologické filtrace vykazovalo všech pět preparátů velice podobné výsledky, avšak po 14 dnech pokusu došlo zřejmě ke kolapsu bakteriální mikroflóry.

Tento jev pozorovali pouze Choi a kol. 2010, kteří pozorovali kompletní odumření nitrifikačních bakterií během pěti hodin po prudkém snížení pH v systému, jež způsobilo indukci množení profága. Ten je běžnou součástí DNA nitrifikačních bakterií. V našem případě tento vliv není možno potvrdit, neboť v té době došlo ke krátkodobému výpadku měření a nejsme si jisti, co se v systémech v danou dobu odehrávalo.

6.5.3 Záběh Biofiltru v RAS Dánského typu

Průběh záznamu biologického filtru během našeho testu, z hlediska změn obsahů jednotlivých dusíkatých látek, více či méně kopíruje křivky grafů získané při sledování záznamu biofiltrů mnohými autory a obecně zveřejňované v dostupné literatuře (Bregnballe 2010, Cresson a kol. 2006, Tsuneda a kol. 2003, Van der Star a kol. 2007). Většina pokusů výše zmíněných autorů byla prováděna při dvojnásobě vyšších teplotách a i přes to byl námi dosažený záznam biologického filtru o třetinu kratší (12 - 15 dní), než u výše zmíněných autorů. Průměrná délka záznamu biologického filtru bez bioaugmentace při teplotách kolem 20 °C je udávána kolem 35 dnů, s bioaugmentací kolem 23 dnů. Prvotní záběh biofiltru na farmě v Pravíkově, který proběhl bez bioaugmentace trval od srpna do prosince (5 měsíců) a to i přes vysoké teploty na počátku daného období (18 °C), které tento by proces měly výrazně urychlit.

7 ZÁVĚR

Během svého dosavadního působení na Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství jsem se se svými kolegy soustavně zabýval výzkumnou činností zaměřenou především na intenzivní recirkulační systémy pro chov lososovitých ryb a to zejména systémy postavenými na základě dánské technologie. Zjistili jsme především, že naprostou nezbytností pro správné fungování recirkulačních systémů je úplné a bezpodmínečné dodržení metodiky péče o takovéto systémy a absolutní disciplína. Po nedodržení zásad péče o recirkulační systémy, kterému jsme naštěstí byli povětšinou přítomni, nebo jsme se posléze podíleli na řešení problémů tímto vzniklých, viz toxicita dusitanů, byla nasbírána data, díky nimž jsme s kolegy vytvořili řadu metodik a ověřených technologií. Tyto jednoduché návody a ověřené postupy jsou určeny především pro aplikaci do provozu. Podávají ucelené informace o možnostech zacházení se studenovodními RAS dánského typu, řešení problémů v systémech nastalých a především preventivních opatřeních, při jejichž dodržení by k nouzovým situacím v RAS nemělo docházet.

Naše zkoumání vlivu fyzikálně chemických parametrů potvrdilo hypotézu, že tyto mají značný vliv na obsah iontů v krevní plasmě ryb a zároveň naznačují, že tento vliv může být mnohem zřetelnější, než jsme si dříve mysleli. Vzhledem k našim dnešním znalostem zahrnujícím obsahy iontů v krevní plasmě ryb a jejich kolísání ovlivněném řadou vnitřních a vnějších faktorů, budeme muset toto nadále zohlednit při klinické interpretaci laboratorních výsledků rozborů krve ryb. Abychom byli schopni rozlišit fyziologické a patologické kolísání obsahu iontů v krevní plasmě ryb, budeme pokračovat ve sběru dalších informací. Tyto informace budou využity k pochopení interindividuální a intraindividuíální variability těchto hodnot. Z našich výsledků vyplývá, že složení krevní plasmy ryb bude patřit k cenným hodnotám laboratorního vyšetření, pokud budeme schopni určit a interpretovat vyčerpávající souhrn fyziologických odpovědí organismu. Poznání normálních hodnot obsahu iontů v krevní plasmě ryb a vlivu fyzikálně chemických parametrů vodního prostředí na tyto hodnoty do budoucna jistě napomůže k optimalizaci iontové rovnováhy rybiho těla pomocí změny složení vody, popřípadě krmení. To by mělo pomoci zamezit nadměrným ztrátám ryb vlivem oslabení jejich organismu fyziologickou nevyrovnaností.

Zjistili jsme, že kapacitu biologické filtrace nelze podcenit. Pokud bude nedostatečná, biologický filtr bude pracovat proti nám a rybám, produkovat dusitany,

namísto práce v náš prospěch a přeměny amonných iontů až na dusičnany. Při správné volbě kapacity filtru nám filtr umožní výrazně snížit nároky odchovného systému na přítok čerstvé vody při současném zvýšení odchovné kapacity systému. To bude zřejmě při současných změnách klimatu vedoucích ke snižující se dostupnosti kvalitní vody nejen pro chov ryb, ale i uspokojení potřeb lidí a hospodářských zvířat jedním z hlavních důvodů rozvoje těchto systémů. Snížená potřeba vody rovněž vede i k výraznému zvýšení koncentrace nerozpuštěných i rozpuštěných splodin metabolismu ryb v odtékající vodě. Tyto výstupy ze systému, záměrně nepoužívám slova odpady, jsou hodnotnou surovinou pro další využití v zemědělství. Lze je použít jako hnojiv, nebo přímo jako zdroje živin v moderních hydroponických pěstírnách, nebo přímo v systému akvaponie.

Testováním různých druhů bakteriálních preparátů jsme zjistili, že i poměrně drahé a profesionálně se tvářící preparáty nemusí fungovat a je zbytečné je kupovat. Nejlepších výsledků dosáhly preparáty obsahující velká množství živých bakterií, které dosáhly nejlepších výsledků při námi provedených testech. Prakticky srovnatelných výsledků lze však dosáhnout i při použití sypkých preparátů s inaktivovaným inokulem bakterií. Mezi kvalitou sypkých preparátů dostupných na trhu je naneštěstí velká variabilita a kvalita preparátů nemusí nutně růst s jejich cenou.

Druhové složení a rychlost růstu bakterií v biologických filtrech ovlivňuje celá řada fyzikálně chemických faktorů. Nejdůležitějším pro život a dobrou funkci mikrobiálního biofilmu biofiltrů, stejně jako pro prosperitu ryb, se zdá být udržení fyzikálně chemických parametrů co možná nejstabilnějších. Při udržení stabilních parametrů prostředí, v případě, že jsou dané parametry v rozmezí vhodném pro život bakterií a ryb, je vytvořena v odchovném systému jakási homeostáze, kde se všechny jednotlivé biologické součásti systému přizpůsobí daným podmínkám. Při dosažení tohoto stádia následně v systému nedochází k větším ekonomickým ztrátám způsobeným úhyny ryb, nebo sníženými hodnotami jejich chovných parametrů. Jedním z nejdůležitějších faktorů pro správnou funkci biofiltru se ukázala být reakce vody. pH je nutné stabilizovat na úrovni 7,0 – 7,8 a zamezit jeho prudkému poklesu, který je v RAS většinou způsoben hlavně vlivem zintenzivnění metabolismu ryb po jejich nakrmení.

Během pokusu se záběhem biologického filtru jsme dosáhli enormně dobrých výsledků při prvotním záběhu biologického filtru a to s relativně minimálními náklady. Původní kalkulace pro bioaugmentaci (komerční dodávka mikroorganismů) počítala s cenou převyšující 30 000 Kč a zaběhnutím celého biologického filtru do 10 dnů.

Pomocí částečné bioaugmentace jsme byli schopni tuto cenu snížit na méně než 10 000 Kč při prodloužení záběhu o 7 dní. Zároveň jsme během této doby ušetřili, díky vypnutému cirkulačnímu dmychadlu (11 kW) cca 20 000 Kč na elektrické energii. Vlivem dodržení správné metodiky záběhu měl poté filtr dostatečnou kapacitu a nedošlo k výrazné počáteční kumulaci amonných iontů ani dusitanů v systému. Druhý úspěšný pokus se záběhem biologického filtru byl proveden na přelomu jara a léta 2015 opět ve Žďáru nad Sázavou (po invazi koževce, desinfekci a odstavení systému přes zimu). Získaná data však ještě nejsou vyhodnocena a budou zpracována do formy metodiky a ověřené technologie tak, aby naše zkušenosti mohly být přístupné široké rybářské veřejnosti.

Ze zkušeností s funkcí recirkulačních systémů lze vyvodit několik zásadních doporučení pro jejich další využití v podmínkách České republiky.

Díky příliš velkým rozdílům teploty v létě a v zimě je naprosto ekonomicky nevýhodné budovat recirkulační systémy bez zastřešení a jejich tepelné izolace od vnějšího prostředí. V případě otevřeného systému je teplota vody v létě pro chov studenomilných ryb příliš vysoká (i přes 20 °C) a v zimě klesá teplota vody místy i na hranici 0 °C. Možnost chovu teplomilných ryb v otevřeném systému přes zimu bez stabilního zdroje oteplené vody ani nemusíme zmiňovat. Teplotní rozdíly během roku omezují možnost využití kapacity systému z plánovaných dvou obrátů výkrmu (v Dánsku) na maximálně jeden a půl. Díky tomu je při vysoké spotřebě elektrické energie systémem ekonomika chovu ryb v takovémto zařízení posunuta z kladných čísel k hodnotám blízcím se nule. Nastane-li posléze v systému jakýkoliv problém, onemocnění ryb, parazitární infekce, nebo například nutnost výměny jakékoliv jeho součásti, posune se ekonomika systému do záporných čísel. Zakrytí a izolace systému stabilizují fyzikální a díky tomu i chemické podmínky v odchovném systému. Systém oddělený od vnějšího prostředí také umožňuje lépe dodržovat podmínky zoohygieny. Zamezením přístupu vodního ptactva a rybožravých predátorů, kteří mohou na svém těle přenášet zárodky patogenních bakterií a parazitů se výrazně omezí vektory možného zavlečení nákazy do systému. Obě tyto zmíněné patogenní agens se v recirkulačním systému, i v jakémkoliv jiném intenzivním systému pro chov ryb, jsou schopny rychle rozmnožit a napáchat nemalé škody na rybí obsádce. Dalším možným vektorem přenosu nemocí jsou návštěvy systému, kterým lze v případě uzavřeného systému mnohem jednodušeji zamezit v přístupu k chovnému prostředí.

Z důvodu zkvalitnění zoohygieny je vhodné pro každý systém vyčlenit vlastní nářadí a nádoby. Pokud je například třídička ryb používána i mimo systém, je nezbytné ji po každém použití důkladně desinfikovat. To platí i pro přepravní bedny pro převoz ryb.

Nedílnou součástí zajištění správné funkce odchovného zařízení pro chov ryb je použití naprosto zdravé násady ryb. Jakýkoliv, byť i ojedinělý, výskyt parazitů, nebo patogenních kmenů bakterií, nehledě na virová onemocnění, na násadě ryb znamená vysokou pravděpodobnost propuknutí nákazy a velkých ekonomických ztrát. Z tohoto důvodu lze doporučit využívání pouze jednoho ověřeného zdroje násad pro systém. Nákupem násadového materiálu je zároveň odbourána nutnost držení generačního hejna ryb a starosti o něj, o líheň a o časově náročný počáteční rozkrm ryb, na což při řádné starosti o vykrmované ryby nezřídka nezbyvá čas. To se následně projeví na kvalitě pohlavních produktů generačních ryb, oplozenosti jiker, kvalitě plůdku a následně násad a celém cyklu chovu ryb. Pokud je na úkor starosti o líheň, generační ryby a počáteční odkrm ryb zanedbána starost o výkrmovou část rybí farmy, zpravidla se jedná o nedokonalé čištění biologických filtrů a krmení v různou dobu během dne, projeví se toto na ztrátách jak zvýšeným krmným koeficientem, tak na rybí obsádce díky snížené kvalitě vody v systému. Zdrojů kvalitních, „bezpečných“ násad je v České republice zatím poměrný nedostatek. Navíc se díky specifickým vlastnostem českého trhu poměrně často stává, že je odběrateli nabídnuta násada z jiného zdroje za relativně nižší cenu a ten od původní dohody o dodávce násady odstoupí. Ve většině těchto případů posléze nastane situace, kdy se do systému dostanou nemoci, nebo paraziti a do řešení vzniklého problému je nutno investovat násobně více peněz, než je ušetřeno nákupem levnější násady. Dalším efektem je zhoršení obchodních vztahů a důvěry mezi jednotlivými subjekty na trhu, které nikdy ničemu neprospěje.

V případě vybudování nového RAS je velice důležité si uvědomit, že minimálně v prvním roce po jeho vybudování není možno počítat se ziskem. Tato situace je způsobena nedostatkem zdrojů kvalitních násad na trhu, délkou stabilizace fungování systému a úpravami nedostatků vzniklých při budování RAS.

8 LITERATURA

8.1 Online zdroje:

1. Aquaculture Dictionary, www.aquatext.com- code Stress, c2000
<http://www.aquatext.com/dicframe.htm> (ověřeno 27.6.2015).
2. Desbarats, A., Gas Super-Saturation – Causes and Solutions,
<http://www.atlantech.ca/public/articles/Dissolved%20Gases%20in%20Aquaculture.PDF> (ověřeno 27.6.2015).
3. UNKNOWN, Gas Bubble Disease (GBD),
http://www.adfg.alaska.gov/static/species/disease/pdfs/fishdiseases/gas_bubble_disease.pdf, (ověřeno 27.6.2015).
4. FAO, Corporate document repository, Site selection for aquaculture: chemical features of water..., <http://www.fao.org/docrep/field/003/ac183e/ac183e18.htm>, (ověřeno 27.6.2015).
5. Mirhossaini, S. H., Godini, H., Jafari, A., 2010, Effect of Influent COD on Biological Ammonia Removal Efficiency, International Science Index Vol:4, No:2, waset.org/Publication/670
<http://waset.org/publications/670/effect-of-influent-cod-on-biological-ammonia-removal-efficiency> (ověřeno 29.6.2015).
6. Fish health and pH, 2009
<http://www.fishdoc.co.uk/water/pH.html>

8.2 Literární zdroje

Andrén, C. M., Rydin, E., 2012, Toxicity of inorganic aluminium at spring snowmelt-In-stream bioassays with brown trout (*Salmo trutta* L.), Science of the Total Environment 437, s. 422 - 432.

APHA, AWWA, and WEF, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater 21st ed. American Public Health Association, Washington D.C.

Amin, M. N., Barnes, R. K., Adams, L. R. 2014, Effect of temperature and varying level of carbohydrate and lipid on growth, feed efficiency and nutrient digestibility of brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1814), Animal Feed Science and Technology, 193, s. 111 - 123.

Anttila, K., Casselman, M. T., Schulte, P. M., Farrell, A. P. 2013, Optimum temperature in juvenile salmonids: Connecting subcellular indicators to tissue function and whole-organism thermal optimum, *Physiological and Biochemical Zoology*, 86 (2), s. 245 - 256.

Avnimelech, Y., Weber, B., Hopher, B., Milstein, A., Zorn, M., 1986. Studies in circulated fish ponds: organic matter recycling and nitrogen transformation. *Aquaculture and Fisheries Management* 17, s. 231 – 242.

Baruš, V., Oliva, O. a kol. *Mihulovci a ryby* (2). Academia, Praha, 1995, s. 698.

Bartolík, A., Carrera, J., Pérez J., 2011, Bioaugmentation as a tool for improving the start-up and stability of a pilot-scale partial nitrification biofilm airlift reactor, *Bioresource Technology* 102, s. 4370 – 4375.

Batzios, C., Fotis, G., Gavriilidou, I., 1998, Economic dimension of gas bubble disease effects on rainbow trout culture, *North American Journal of Aquaculture* 70 (1), s. 61 - 67.

Beaumont, M. W., Butler, P. J. & Taylor, E. W., 1995, Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to sub-lethal copper concentrations in soft acidic water and its effects upon sustained swimming performance. *Aquatic Toxicology*, 33, s. 45 – 63.

Benfey, T. J., 1996, Use of all-female triploid salmonids for aquaculture in Canada. In. *Bull. Aquaculture Assoc. Can. No. 2*, s. 6 - 8.

Bergheim, A., Asgard, T., 1996. Waste production from aquaculture. In: Bair, D. J., Beveridge, M. C. M., Kelly, L. A., Muir, J. F. (Cit.), *Aquaculture and Water Resource Management*. Blackwell Science, Stirling, s. 50 – 80.

Bidgood, B. F., 1980, Tolerance of rainbow trout to direct changes in water temperature. *Fisheries Research Report, Fish Wildlife Diversity*, No. 15.

Bina B., Movahedian H., Pour Zamani H. R., 2005, Effect of influent cod/n ratio on nitrification rate in a bench-scale biological reactor, water and wastewater, *Spring* , Volume 16, Number 1 (53); s. 30 – 36.

Blancheton, J. P., 2000. Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species. *Aquacultural Engineering*, 22, s. 17 - 31.

Blancheton, J. P., Piedrahita, R., Eding, E. H., Roque d'orbcastel, E., Lemarie', G., Bergheim, A., Boyd, C. E., a Tucker, C. S., 1998, *Pond aquaculture water quality mangement*. Kluwer Academic Publishers, s. 707.

Blancheton, J. P., Piedrahita, R., Eding, E. H., Roque d'orbcastel, E., Lemarie', G., Bergheim, A., Fivelstad, S., 2007. *Intensi.cation of landbased aquaculture production in*

single pass and reuse systems. In: Aquaculture Engineering and Environment, (Chapter 2).

Bollmann, A., Laanbroek, H. J., 2001, Continuous culture enrichments of ammonia-oxidizing bacteria at low ammonium concentrations, *FEMS Microbiology Ecology* 37, s. 211 – 221.

Boyd, C. E., 1995, Bottom soils, sediment and pond aquaculture. Chapman and Hall, New York. s. 348.

Boyd, C. E., a Tucker, C. S., 1998, Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, s. 707.

Brabec, T., 2012, Možnosti produkčního využití rybníčních ploch v různých klimatických a hospodářských podmínkách, doktorská disertační práce.

Bregnballe, J., 2010, A guide to recirculation aquaculture. Eurofish, Copenhagen, Denmark, s. 66.

Brunty, J. L. – Bucklin, R. A. – Davis, J. – Baird, C. D. – Nordstedt, R. A., 1997, The influence of feed protein on tilapia ammonia production. In. *Aquacultural Engineering* 16, s. 162 – 166.

Cabello P., Roldán M. D., Moreno-Vivián C., 2004, Nitrate reduction and the nitrogen cycle in archaea. *Microbiology (Reading, Engl.)*. November, roč. 150, čís. Pt 11, s. 3527 – 3546.

Cai, Y., Summerfelt, R. C., 1992. Effects of temperature and size on oxygen consumption and ammonia excretion by walleye. *Aquaculture*, 104 (1-2), s. 127 - 138.

Cai, Y., Wermerskirchen, J., Adelman, I. R., 1996, Ammonia excretion rate indicates dietary protein adequacy for fish. *The Progressive Fish-Culturist* 58, s. 124 - 127.

Cameron, J. N., 1971. Methemoglobine in erythrocytes of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology* 40, s. 743 – 749.

Choi, J., Kotay, S. M., Goel, R., 2010, Various physico-chemical stress factors cause prophage induction in *Nitrosospira multiformis* 25196 - an ammonia oxidizing bacteria, *Water Research* 44, s. 4550 - 4558.

Cocherell, D. E., Fanguie, N. A., Klimley, P. A., Cech Jr., J. J., 2014 Temperature preferences of hardhead *Mylopharodon conocephalus* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in an annular chambre, *Environmental Biology of Fishes*, 97 (8), s. 865 - 873

Coolen M. J., Abbas B., van Bleijswijk J., a kol., 2007, Putative ammonia-oxidizing Crenarchaeota in suboxic waters of the Black Sea: a basin-wide ecological study using 16S ribosomal and functional genes and membrane lipids. *Environ. Microbiology* 9, čís. 4, s. 1001 – 1016.

Crawford, R. E., Allen, G. H., 1977. Seawater inhibition of nitrite toxicity to Chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 106, s. 105 – 109.

Cresson, R., Carrère, H., Delgenès, J. P., Bernet, N., 2006, Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor-Impact of nutrient complementation, *Biochemical Engineering Journal*, 30 (1), s. 55 - 62.

Čítek, J. - Krupauer, V - Kubů, F., 1998, *Rybníkářství*. Nakl. Informatorium, Praha, ISBN 80-86073-26-2.

Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1998, *Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb*. Nakl. Informatorium, Praha, ISBN 80-86073-32-7.

Da Silva, W., 1997, Ancestral bacterium keeps DNA locked apart, *New Scientist* 154, č. 2082, s. 19.

Davidson, J., Schrader, K., Ruan, E., Swift, B., Aalhus, J., Juarez, M., Wolters, W., Burr, G., Good, C., Summerfelt, S. T., 2014, Evaluation of depuration procedures to mitigate the off-flavor compounds geosmin and 2-methylisoborneol from Atlantic salmon *Salmo salar* raised to market-size in recirculating aquaculture systems, *Aquacultural Engineering* 61, s. 27 - 34.

D'Cruz, L.M., Wood, C.M., 1998, The influence of dietary salt and energy on the response to low pH in juvenile rainbow trout, *Physiological Zoology*, 71 (6), s. 642 - 657.

Delatolla, R., Tufenkji, N., Comeau, Y., Lamarre, D., Berk, D., 2012, Effects of long exposure to low temperatures on nitrifying biofilm and biomass in wastewater treatment, *Water Environment Research* 84 (4), s. 328 - 338.

Denson Jr., Eley P., Loomis, Dean D., 1986, Gas bubble disease in trout Below a low dam, s. 1775 - 1784. ISBN: 0872625362.

Desloover, J., De Clippeleir, H., Boeckx, P., Du Laing, G., Colsen, J., Verstraete, W., Vlaeminck, S. E., 2011, Floc-based sequential partial nitrification and anammox at full scale with contrasting N₂O emissions, *Water Research*, 45 (9), s. 2811 - 2821.

Díaz, V., Ibáñez, R., Gómez, P., Urtiaga, A. M., Ortiz, I. 2012, Kinetics of nitrogen compounds in a commercial marine Recirculating Aquaculture System, *Aquacultural Engineering*, 50, s. 20 - 27.

- Dodds, W. K. a Whiles, M. R., 2010: Freshwater ecology. Academic Press. s. 811.
- d'Orbcastel, E. R., Blancheton, J. P., Belaud, A., 2009. Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. *Aquacultural Engineering*, 40, s. 135 - 143.
- Dubský, K, Kouřil, J., Šrámek, J. 2003, *Obecné rybářství*. Informatorium, Praha.
- Duston, J., Astatkie, T., MacIsaac, P. F., 2003, Long-to-short photoperiod in winter halves the incidence of sexual maturity among Arctic charr, *Aquaculture* 221 (1-4), s. 567 - 580.
- Dvořák, P., 2004. Vybraná specifika onemocnění akvariálních ryb. *Bulletin VÚRH Vodňany* 40, s. 101 – 108.
- Dyk, V., Podubský, V., Štědronský, E., 1956, *Základy našeho rybářství*. SZN, Praha.
- Egli, K., Langer, C., Siegrist, H. R., Zehnder, A. J. B., Wagner, M., van der Meer, J. R., 2003, Community Analysis of Ammonia and Nitrite Oxidizers during Start-Up of Nitrification Reactors, *Applied and environmental microbiology* 69, č. 6, s. 3213–3222.
- El-Deen, N. A. I., Shalaby, S. I., Mona, S. Z., Abd Elzaher, M. F., 2013, Some infectious and non infectious eye affection syndrome in fish, *Life Science Journal* 10 (2), s. 1362 -1368.
- Elston, R., Colt, J., Frelie, P., Mayberry, M., Maslen, W., 1997, Differential diagnosis of gas emboli in the gills of steelhead and other salmonid fishes , *Journal of Aquatic Animal Health*, 9 (4), s. 258 - 264.
- Engin, K., Yilmaz, H. A., Ozsahinoglu, I., Mumogullarinda, P. 2012 Diurnal ammonia and urea excretion rates in the juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax* fed diets containing cotton seed and/or canola oils, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11 (13), s. 2220 - 2229.
- Espmark, Å. M., Hjelde, K., Baeverfjord, G., 2010, Development of gas bubble disease in juvenile Atlantic salmon exposed to water supersaturated with oxygen *Aquaculture*, 306 (1-4), s. 198 - 204.
- European Inland Fisheries Advisory Commission, 1984 (EIFAC). Water quality criteria for European freshwater fish: Report on nitrite and freshwater fish. Food and Agriculture Organization of the United nations. EIFAC Technical Paper 46, s. 19.
- Fan, G., Zhu, G., Wang, Y., Wang, S., Wang, C., Yin, C., 2010, New functional microorganisms in nitrogen cycle restoration of river riparian ecosystems, *Huanjing Kexue Xuebao/Acta Scientiae Circumstantiae* 30 (8), s. 1558 - 1563.

Fivelstad, S., 2007. Intensification of landbased aquaculture production in single pass and reuse systems. In: Aquaculture Engineering and Environment, (Chapter 2).

Fontenot, Q. C., Isely, J. J., Tomasso, J. R., 1999. Characterisation of inhibition of nitrite uptake in shortnose sturgeon fingerlings. *Journal of Aquatic Animal Health* 11, s. 76 – 80.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2010. The state of world fisheries and aquaculture 2010. FAO, Rome. 197 s.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014, The State of World Fisheries and Aquaculture, Food and agriculture organization of the united nations, Rome. Dostupné na WWW: <<http://www.fao.org/3/a-i3720e/index.html>>.

Frances, J. MacMillan, R., 1992. Economic implications of water quality management for a commercial trout farm. In: Blake, J., Donald, J., Magette, W. (Cit.), National Livestock, Poultry, and Aquaculture Waste Management. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, s. 185 – 190.

Francis C. A., Beman J. M., Kuypers M. M., 2007, New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *ISME J.* May 2007, roč. 1, čís. 1, s. 19 – 27.

Frantzen, M., Arnesen, A. M., Damsgård, B., Tveiten, H., Johnsen, H. K., 2004, Effects of photoperiod on sex steroids and gonad maturation in Arctic charr, *Aquaculture* 240 (1-4), s. 561 - 574.

Fuerst, J. A., 2014, Planctomycetes: Cell structure, origins and biology, *Planctomycetes: Cell Structure, Origins and Biology*, s. 1 - 286.

Gao, J., Luo, X., Wu, G., Li, T., Peng, Y., 2014, Abundance and diversity based on amoA genes of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in ten wastewater treatment systems, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98 (7), s. 3339 - 3354.

Gélineau, A., Médale, F., Boujard, T. 1998, Effect of feeding time on postprandial nitrogen excretion and energy expenditure in rainbow trout, *Journal of Fish Biology*, 52 (4), s. 655 - 664.

Gültepe, N., Ateş, O., Hisar, O., Beydemir, Ş., 2011, Carbonic anhydrase activities from the rainbow trout lens correspond to the development of acute gas bubble disease, *Journal of Aquatic Animal Health* 23 (3), s. 134 - 139.

Han, X., Hai, R., Wang, W., 2010, Effect of COD/N ratio and pH on nitrification in a laboratory-scale constructed wetlands treating septic tank wastewater, *Environmental Engineering and Management Journal* 9 (5), s. 615 - 621.

Hamáčková, J., Lepičová, A., Kozák, P., Kouřil, J., Polícar, T., Lepič, P., 2000, Tolerance raného plůdku kapra obecného, amura bílého a tolstolobika bílého k různým hodnotám pH. Sborník referátu ze IV. České ichtyologické konference, VÚRH JU Vodňany, ISBN 80-85887-32-0, s. 231 – 234.

Hargreaves, J. A., 1998, Nitrogen biochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture*, 166, s. 181 - 212.

Hartman, K. J., Porto, M. A., 2014, Thermal Performance of Three Rainbow Trout Strains at Above-Optimal Temperatures, *Transactions of the American Fisheries Society*, 143 (6), s. 1445 - 1454.

Hartman, P., Přikryl, I., Štědranský, E., 1998: *Hydrobiologie*, Nakl. Informatorium, Praha.

Heteša, J., Kočková, E., 1997, *Hydrochemie*. Skripta AF MZLU Brno, 106 p.

Heteša, J., Kočková, E., 1998 *Hydrochemie*. Skripta AF MZLU Brno, ISBN 80-7157-289-6.

Holcombe, G. W., Pasha, M. S., Jensen, K. M., Tietge, J. E., Ankley, G. T., 2000, Effects of photoperiod manipulation on brook trout reproductive development, fecundity, and circulating sex steroid concentrations, *North American Journal of Aquaculture* 62 (1), s. 1 - 11.

Horáková, M. a kol., (2007): *Analytika vody*. VŠCHT Praha, 335 p.

Huey, D. W., Simco, B. A., Criswell, D. W., 1980. *Transactions of the American Fisheries Society* 109, s. 558 - 562.

Huggins, D. L., Piedrahita, R. H., Rumsey, T., 2005, Use of computational fluid dynamics (CFD) for aquaculture raceway design to increase settling effectiveness. *Aquacultural Engineering*, 33, s. 167-180.

Hunt von Herbing, I., Pan, T.-C. F., Méndez-Sánchez, F., Garduño-Paz, M., Hernández-Gallegos, O., Ruiz-Gómez, M. L., Rodríguez-Vargas, G. 2015, Chronic stress of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* at high altitude: A field study, *Journal of Fish Biology*, 87 (1), s. 138 - 158.

Iftikar, F. I., Patel, M., Ip, Y. K., Wood, C. M., 2008. The influence of feeding on aerial and aquatic oxygen consumption, nitrogenous waste excretion, and metabolic fuel usage in the African lungfish, *Protopterus annectens*. *Canadian Journal of Zoology* 86 (8), s. 790 - 800.

Jensen, F. B. 2003, Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 135, s 9 – 24.

Jia, F., Peng, Y., Wang, S., Wang, S., Yang, Q., 2014, Ultrastructure and function of anaerobic ammonium oxidation bacteria cells, *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 20 (5), s. 944 - 954.

Jirásek, J. - Adámek, Z. - Pha, N., 1977, Vliv různé potravy na spotřebu kyslíku u kapřího plůdku. In: *Živočišná výroba*, 22, (11), s. 833 - 838.

Jirásek, J., 1989, Biologické a technologické aspekty intenzivního odchovu kapřího plůdku. Doktorská disertační práce AF VŠZ Brno.

Johnson, E. L., Clabough, T. S., Caudill, C. C., Keefer, M. L., Peery, C. A., Richmond, M. C., 2010, Migration depths of adult steelhead *Oncorhynchus mykiss* in relation to dissolved gas supersaturation in a regulated river system, *Journal of Fish Biology*, 76 (6), s. 1520 - 1528.

Kamstra, A., Span, J. A., Van Weerd, J. H., 1996. The acute toxicity and sublethal effects of nitrites on growth and feed utilization of European eel, *Anquilla anquilla*, (L). *Aquaculture Research* 27, s. 903 – 911.

Kartal, B., van Niftrik, L., Keltjens, J. T., Op den Camp, H. J. M., Jetten, M. S. M., 2012, Anammox-Growth Physiology, Cell Biology, and Metabolism, *Advances in Microbial Physiology* 60, s. 211 - 262.

Kishida, N., Saeki, G., Tsuneda, S., Sudo, R., 2012, Rapid start-up of a nitrifying reactor using aerobic granular sludge as seed sludge, *Water Science and Technology* 65 (3), s. 581 - 588.

Knowles, G., Downing, A. L., Barrett, M. J., 1965, Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture, with the Aid of an Electronic Computer, *Journal of genetical Microbiology*, 38, s. 268 - 278

Knudsen, P. K., Jensen, F. B. 1997, Recovery from nitrite-induced methaemoglobinaemia and potassium balance disturbances in carp. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16 (1), s. 1 - 10.

Konáš, K., 1973, Spotřeba kyslíku u plůdku tolstolobika bílého. Dipl. práce AF VŠZ Brno.

Kong, Q., Liang, S., Zhang, J., Miao, M., Tian, L., 2013, N₂O emission in a partial nitrification system: Dynamic emission characteristics and the ammonium-oxidizing bacteria community, *Bioresource Technology* 127, s. 400 - 406.

Kopp, R., Mareš, J., Lang, Š., Brabec, T., Ziková, A. 2011, Assessment of ranges plasma indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under conditions of

intensive aquaculture. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. LIX, 6, s. 181 - 187. ISSN 1211-8516.

Košťanská, R., 2004, Spotřeba kyslíku a úroveň pH vody ve vztahu k hmotnosti larev kapra a použité diety. Dipl. práce AF MZLU v Brně.

Kroupová, H., Máchová, J., Svobodová, J., 2005, Dusitany ve vodním prostředí a jejich účinky na ryby – přehled. In. *Bulletin VÚRH Vodňany*, 41(4), s. 154-170

Lang, Š., Kopp, R., Brabec, T., Vítek, T., Mareš, J., 2011a, Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chop ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému Dánského typu, *Ověřená technologie R02*, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 27 s.

Lang Š., Kopp R., Mareš J., 2011b, The influence of rearing technology and physico-chemical parameters of water to plasmatic ions in blood of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *MendelNet 2011 – Proceedings of International Ph.D. Students Conference*, s. 774 – 782, ISBN: 978-80-7375-563-8

Lang, Š., Kopp, R., Mareš, J., Melichar, M., 2014, Vliv částečné bioaugmentace na prvotní záběh biofiltru intenzivního recirkulačního systému Dánského typu pro chov lososovitých ryb, *Sborník konference: 65 let výuky rybářství na Mendelově univerzitě v Brně*, Mendelova univerzita v Brně, Brno, s. 99 – 103. ISBN: 978-80-7509-153-6.

Lang, Š., Kopp, R., Ziková, A., Vítek, T., Mareš, J., 2010, Diurnální změny vybraných hydrochemických parametrů na recirkulačním systému dánského typu při různé teplotě vody, *Bulletin VURH Vodňany vol. 46, no. 4*, s. 23 – 32. ISSN 0007-389X

Lang Š., Teplý, M., Brabec, T., Kopp, R., MAREŠ, J., 2013, Biofiltry v recirkulačních systémech, *Zkušenosti s chovem ryb v recirkulačním systému dánského typu – sborník příspěvků*, s. 53 – 58, ISBN: 879-80-7375-919-3.

Larsson, S. 2005, Thermal preference of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, and brown trout, *Salmo trutta* - Implications for their niche segregation, *Environmental Biology of Fishes*, 73 (1), s. 89 - 96.

Leininger, S., Urich, T., Schloter, M. L. Schwark, J. Qi, Nicol, G. W., Prosser, J. I. Schuster, S. C., Schleper, C. 2006, Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442, s. 806 – 809.

Lellák, J., a Kubíček, F., (1991): *Hydrobiologie*. Karolinum, Praha 1992, s. 260.

Li, X. R., Du, B., Fu, H. X., Wang, R. F., Shi, J. H., Wang, Y., Jetten, M. S. M., Quan, Z. X., 2009, The bacterial diversity in an anaerobic ammonium-oxidizing

(anammox) reactor community, *Systematic and Applied Microbiology* 32 (4), s. 278 - 289.

Ling, J., Chen, S., 2005, Impact of organic carbon on nitrification performance of different biofilters, *Aquacultural Engineering*, 33 (2), s. 150 - 162.

Liu, Y., Song, X., Lei, J., Peng, L., Huang, Z., Liu, B., 2015, Biofiltration of cyclo-bio fluidized sand bed in recirculating aquaculture system, *Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* 31 (3), pp. 249-254.

Liu, F. G., Yang, S. D., Chen, H. C. 2009. Effect of temperature, stocking density and fish size on the ammonia excretion in palmetto bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*), *Aquaculture Research*, 40 (4), s. 450 - 455.

Love, M. R., 1980, *The chemical biology of fishes*. Academic Press, New York.

Lucký, Z., 1986, *Péče o zdraví a prevence chorob ryb. Naše vojsko, Praha*.

Ma, Y., Sundar, S., Park, H., Chandran, K. 2015, The effect of inorganic carbon on microbial interactions in a biofilm nitrification-anammox process, *Water Research* 70, s. 246 - 254.

Máchová, J., Svobodová, Z., 2001. Nitrite toxicity to fish under experimental and farming conditions – poster č. P-275, 10th International conference of EAFP Diseases of Fish and Shellfish, Dublin, 9th – 14th September 2001.

MacMillan, R., 1992. Economic implications of water quality management for a commercial trout farm. In: Blake, J., Donald, J., Magette, W. (Cit.), *National Livestock, Poultry, and Aquaculture Waste Management*. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, s. 185 – 190.

Maetz, J., 1971. Fish gills: Mechanism of salt transfer in fresh water and sea water. *Physiological Transactions of Royal Society of London Series B Biological Sciences*. 262, s. 209 – 249.

Manera, M., Britti, D. 2006: Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 69, s. 1427 – 1434.

McConnell, R., 1985. Toxicity of nitrite to fathead minnow. Colorado department of Health File Report, Denver.

Meade, T. L., Perrone, S. J., 1980: Selective haematological parameters in steelhead trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 17, s. 9 – 12.

Meka, J. M., McCormick, D. S., 2005: Physiological response of wild rainbow trout to angling: Impact of angling duration, fish size, body condition, and temperature. *Fisheries Research* 72, 2–3, s. 311 – 322.

Mozes, N., Eshchar, M., Conijeski, D., Fediuk, M., Ashkenazy, A., Milanez, F., 2002. Marine water recirculating systems in Israel-performance, production cost analysis and rationale for desert conditions. In: Rakestraw, T., Douglas, L., Flick, G., 2002 (Cit.), *Proceeding of the Fourth International Conference on Recirculating Aquaculture*, Roanoke, VA, USA, July 18–21, s. 404 – 413

Merten, M., 1969, Spotřeba kyslíku u kapřího plůdku různého stáří. Dipl. práce AF VŠZ Brno.

Mirhossaini, S. H., Godini, H., Jafari, A., 2010, Effect of Influent COD on biological ammonia removal efficiency, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 62, s. 315 - 317.

Molony, B., 2001, Environmental requirements and tolerance of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and Brown trout (*Salmo trutta*) with special reference to Western Australia: A review. *Fisheries Research Report No. 130*.

Neumann, S., Van Teeseling, M. C. F., Van Niftrik, L., 2014, Cell biology of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: Unique prokaryotes with an energy-conserving intracellular compartment, *Planctomycetes: Cell Structure, Origins and Biology*, s. 89 - 123.

Noble, C., Mizusawa, K., Tabata, M., 2005, Does light intensity affect self-feeding and food wastage in group-held rainbow trout and white-spotted charr?, *Journal of Fish Biology* 66 (5), s. 1387 - 1399.

Nowak, B. F. – Allan, G. L., 2000, Effects of ammonia on juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). In. *Aquaculture* 183, s. 95 – 103.

Ojolick, E. J., Cusack, R., Benfey, T. J., Kerr, S. R., 1995, Survival and growth of allfemale diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) reared at chronic high temperature. In. *Aquaculture*. 131, s. 177 - 187.

Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, Y., Satoh, H., 2011, N₂O emission from a partial nitrification-anammox process and identification of a key biological process of N₂O emission from anammox granules, *Water Research*, 45 (19), s. 6461 - 6470.

Palachek, R. M., Tomasso, J. R., 1984. Toxicity of nitrites to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*Tilapia aurea*) and largemouth bass (*Micropterus*

salmoides): evidence for nitrite exclusion mechanism. *Canadian Journal of Fish Aquatic Science* 41, 1739 – 1744.

Palíková, M., Navrátil, S., Čížek, A., Soukupová, Z., Lang, Š., Kopp, R., Mareš, J. 2014, Seasonal occurrence of diseases in a recirculation system for salmonid fish in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 83 (3), s. 201 - 208.

Pedersen, L. F., Suhr, K. I., Dalsgaard, J., Pedersen, P. B., Arvin, E. 2012. Effects of feed loading on nitrogen balances and fish performance in replicated recirculating aquaculture systems, *Aquaculture*, 338 - 341, s. 237 - 245.

Pitter, P., 1999. *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Pitter, P., 2009, *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT Praha, 592 s.

Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 1998, *Pstruhařství*. Nakl. Informatorium, Praha.

Poléo, A. B. S., 1995, Aluminium polymerization - a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish, *Aquatic Toxicology* 31 (4), s. 347-356.

Prusziński, T., 2003, Effects of feeding on ammonium excretion and growth of the African catfish (*Clarias gariepinus*) fry. In. *Czech Journal of Animal Science*, 48, (3), s. 106 – 112.

Roberts, R. J., 2001, *Miscellaneous Non-Infectious Diseases in Fish Pathology*, s. 367-379. ISBN 0-7020-2563-1.

Robin, J., Cravedi, J. P., Hillenweck, A., Deshayes, C., Vallod, D., 2006, Off flavor characterization and origin in French trout farming, *Aquaculture* 260 (1-4), s. 128 - 138.

Rodgers, D. W., Griffiths, J. S., 1983, Effects of elevated thermal regimes on survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In. *J. Great Lakes Res.* 9, s. 421 - 424.

Romero, C. M., Vanella, F., Tapella, F., Lovrich, G. A. 2006. Assimilation and oxygen uptake associated with two different feeding habits of *Munida gregaria* (*M. subrugosa*) (Crustacea, Decapoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 333 (1), s. 40-48.

Ruchin, A. B.: Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish, In. *Fish Physiology and Biochemistry*, Russo, R. C., Thurson, R. V., 1977. The acute toxicity of nitrite to fishes. In: Tubb, R. A., (ed.). *Recent Advances in Fish Toxicity*. EPA-600/3-77-085. US Environmental Protection Agency, Corvallis, OR., s. 118 – 131.

Russo, R. C., Thurson, R. V., 1991. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes. In: Brune, D. E., Tomasso, J. R., 2004, *Aquaculture and Water Quality*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, 58 – 89. *Biochemistry* 30, s. 175– 178

Řehulka J., Minařík B., 2001, Effect of some physical and chemical characteristics of water on the blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed an astaxanthin-containing diet. *Czech. J. Anim. Sci.*, 46, s. 413-420.

Řehulka J., Minařík B., 2008, Total calcium and inorganic phosphate in blood plasma in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 39, s. 1161–1168.

Řehulka, J., Párová, J., 2000a: Influence of three types of oil in diet upon some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Czech Journal of Animal Science*, 45, s. 127 – 132.

Řehulka, J., Párová, J., 2000b: Effect of diets with different lipid and protein contents on some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Czech J. Anim. Sci.*, 45, s. 263–269.

Schäfer G., Engelhard M., Müller V., 1999 Bioenergetics of the Archaea, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63 no. 3, s. 570-620.

Sinha, A. K., Matey, V., Giblen, T., Blust, R., De Boeck, G., 2014, Gill remodeling in three freshwater teleosts in response to high environmental ammonia, *Aquatic Toxicology* 155, s. 166-180.

Speare, D. J., 1990, Histopathology and ultrastructure of ocular lesions associated with gas bubble disease in salmonids, *Journal of Comparative Pathology*, 103 (4), s. 421-432.

Speare, D. J., 1991, Endothelial lesions associated with gas bubble disease in fish, *Journal of Comparative Pathology*, 104 (3), s. 327-335.

Stibranyiová, J., Máchová, J., Prokeš, M., Vykusová, B., Svobodová, Z., 1996, Larval development of common carp (*Cyprinus carpio*) under modified pH environment. In: *Sborník vědeckých prací k 75. výročí založení VÚRH, VÚRH JU Vodňany*, ISBN 80-85887-03-7, s. 67-75.

Summerfelt, S. T., 1999. Waste-handling systems. In: Wheaton, F. W. (Ed.), *CIGR Handbook of Agricultural Engineering, Vol. II Aquaculture Engineering*. American Society of Agricultural Engineers, Maryland, s. 309–350.

Svinger, V., Stejskal, V., Prokešová, M., Matoušek, J., Šebesta, R., Novikava, K., Kouřil, J. 2015. Verzögerung der Geschlechtsreife bei zweisommerigen Bachsaiblingen durch Einsatz zweier verschiedenen Beleuchtungssysteme. *Fischer und Teichwirt* 5, s. 163 – 166.

Svobodová, Z. a kol. 1987, Toxikologie vodních živočichů. Státní zemědělské nakladatelství v Praze, MZVŽ ČR a Český Rybářský svaz.

Svobodová, Z. a kol. 2008, Veterinární toxikologie v klinické praxi. Profi Press, Praha, 256 s.

Svobodová, Z., Máchová, J., Kolářová, J., Hamáčková, J. 2001, Otrava ryb dusitany v recirkulačních systémech. Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí, s. 203 – 209.

Svobodová, Z., Máchová, J., Poleszczuk, G., Hůda, J., Hamáčková, J., Kroupová, H., 2005, Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating system: three case studies. Acta veterinaria Brno 74, s. 129 – 137.

Kroupova, H., Machova, J., Svobodova, Z., 2015, Nitrite influence on fish: A review. Veterinari Medicina, 50 (11), s. 461 - 471.

Tilak, K. S., Laksmi, J. S., Susan, A. T. 2002, The toxicity of amonia, nitrite and nitrate to the fish, *Calta calta* (Hamilton). In. J. of Environ. Biol. 23(2), s. 147 – 149.

Trenzado, C. E., Carrick, T. R., Pottinger, T. G., 2003, Divergence of endocrine and metabolic responses to stress in two rainbow trout lines selected for differing cortisol responsiveness to stress. In. General and comparative endocrinology, Volume 133, Issue 3, s. 332-340.

Trenzado, C. E., Morales, A. E., de la Higuera, M., 2006, Physiological effects of crowding in rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) selected for low and high stress responsiveness. In. Aquaculture Volume 258, Issues 1-4, 31, s. 583 - 593.

Van der Star, W. R. L., Abma, W. R., Blommers, D., Mulder, J.-W., Tokutomi, T., Strous, M., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M. C. M. 2007, Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam, Water Research, 41 (18), s. 4149 - 4163.

Van Kessel, M. A. H. J., Harhangi, H. R., Flik, G., Jetten, M. S. M., Klaren, P. H. M., Op Den Camp, H. J. M., 2011, Anammox bacteria in different compartments of recirculating aquaculture systems, Biochemical Society Transactions, 39 (6), s. 1817 - 1821.

Van Niftrik, L., 2013, Cell biology of unique anammox bacteria that contain an energy conserving prokaryotic organelle, Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology, 104 (4), s. 489-497.

Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., 2009: Effects of acute exposure to bifenthrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Veterinarni Medicina 54, s. 131–137.

Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., Novotný, L., Blahová, J., Sudová, E., Malý, V., 2008: Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinarni Medicina 53, s. 324 – 332.

Vítek, T., Kopp, R., Lang, Š., Brabec, T., Mareš, J., 2011, Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu. Certifikovaná metodika R01/15VD46246/2011-16230, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 20 s.

Woese C. R., 1994, There must be a prokaryote somewhere: microbiology's search for itself. Microbiological Reviews, ročník 58, číslo 1, s. 1–9.

Williams, E. M., Eddy, F. B., 1986. Chlorine uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. Journal of Comparative Physiology B, 156, s. 867 – 872.

Wilson, R. W., 2011, Aluminium, Fish Physiology 31 (PART B), p. 67-123.

Wood, C. M., 1993. Ammonia and urea metabolism and excretion. In: Ewans, D. H. (Ed) Physiology of Fishes. CRC Press Boca Raton, s. 379 – 425.

Wurts, W. A. - Durborow, R. M., 1992 Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds, Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 464.

Yager, T. K., Summerfelt, R. C. 1994. Effects of feeding frequency on metabolism of juvenile walleye, Aquacultural Engineering, 13 (4), s. 257-282.

Zakeš, Z., Demska-Zakeš, K., Jarocki, P., Stawecki, K. 2006. The effect of feeding on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile tench *Tinca tinca* (L.) reared in a water recirculating system, Aquaculture International, 14 (1-2), s. 127-140.

Zakes, Z., Przybyl, A., Wozniak, M., Szczepkowski, M., Mazurkiewicz J., 2004 Growth performance of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) fed graded levels of dietary lipids. In: Czech J. Anim. Sci., 49, (4), s. 156–163.

Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J., Stará, A., Svobodová, Z., Kroupová, H. K., 2013, Recovery of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after subchronic nitrite exposure, Acta Veterinaria Brno, 82 (1), s. 73-79.

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. *Vliv teploty vody na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě při konstantním tlaku.*

Obrázek 2: *Změny obsahu jednotlivých forem dusíkatých sloučenin v průběhu přirozené kolonizace biofiltru nitrifikačními bakteriemi (Bregnballe,2010, přeloženo).*

Obrázek 3. *Schéma pohybu vody a rychlosti proudu v chovném žlabu (dle Vítek a kol. 2011).*

Obrázek 4. *Schéma systému pro chov lososovitých ryb Dánského typu v Pravíkově (Žďáru nad Sázavou) s vyznačením odběrových míst. 1- přítok, 2- přítok na žlaby, 3- systém, 4- odtok na biofiltr (Vítek a kol. 2011).*

Obrázek 5: *Průběh změn pH v systému během dne v závislosti na vyplavování vápence a metabolismu ryb.*

Obrázek 6: *Průběh změn pH v systému během dne při KNK 0,3 mmol.l⁻¹.*

Obrázek 7: *Graf průběhu změn průměrných denních teplot vzduchu a vody na RAS v Pravíkově (9.11.2012 – 22.9.2015).*

Obrázek 8: *Průběh změn obsahů dusíkatých látek během pilotního pokusu.*

Obrázek 9: *Průběh obsahu amoniakálních iontů v RAS dánského typu ve Žďáru nad Sázavou během záběhu (2014).*

10 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: *Vliv teploty vody a tlaku na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě (Hartman a kol. 1998; upraveno).*

Tabulka 2: *Účinek hodnot pH na vodní organismy (www.fishspecialist.com, cit. Košťanská 2004 - přeloženo).*

Tabulka 3: *Závislost mezi pH, teplotou a obsahem amoniakálního dusíku (Heteša a Kočková, 1997).*

Tabulka 4: *Efektivita odstraňování pevných částic z recirkulačního systému k chovu ryb v závislosti na velikosti částic a rychlosti proudu (převzato z Huggins a kol. 2005).*

Tabulka 5: *Doporučené hodnoty fyzikálně-chemických parametrů pro chov ryb v recirkulačních systémech Dánského typu (Bregnballe, 2010, přeloženo).*

Tabulka 6: *Průměrné teploty vody v RAS v Pravíkově na odtoku vody do biologického filtru (místo č. 4 - viz obr. 1).*

11 PŘÍLOHY

1. Technologie: Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chop ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému Dánského typu.

Mendelova univerzita v Brně

Ověřená technologie

TECHNOLOGIE R02/2011

Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému Dánského typu.

Ing. Štěpán Lang, doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D., Ing. Tomáš Brabec, Ing. Tomáš Vítek, Ph.D.,

doc. Dr. Ing. Jan Mareš

Realizační výstup výzkumného projektu MZe ČR QI91C001 Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb Národní agenturou pro zemědělský výzkum a výzkumného záměru MSM 6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Adresa autorů:

Ing. Štěpán Lang, doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D., Ing. Tomáš Brabec, Ph.D., Ing. Tomáš Vítek, Ph.D., doc. Dr. Ing. Jan Mareš

Mendelova univerzita v Brně, Oddělení rybnářství a hydrobiologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno

www.rybarstvi.eu

Mendelova univerzita v Brně

ISBN 978-80-7375-597-3

Obsah:

| | |
|---|-----------|
| 1. Úvod | 4 |
| 1.1 Recirkulační zařízení dánského typu určené k chovu ryb | 4 |
| 1.2 Stavba recirkulačního systému | 6 |
| 2. Recirkulační systém v Pravíkově | 7 |
| 3. Kyselinová neutralizační kapacita (KNK) | 9 |
| 4. Technologie ovlivnění KNK | 11 |
| 5. Dusitany | 12 |
| 6. Technologie ovlivnění toxicity dusitanů pomocí úpravy obsahu chloridů ve vodě | 15 |
| 7. Seznam použité literatury | 20 |
| 8. Seznam předcházejících publikací | 24 |

Cíl: Cílem technologie je vysvětlit principy a zavést pro běžné rybářské praxe techniku jednoduché regulace a optimalizace vybraných hydrochemických parametrů - techniku stabilizace KNK (pH) a snížení toxicity dusitanů v recirkulačních zařízeních pro chov ryb.

Popis: Technologie přehledně popisuje odborné rybářské veřejnosti ověřený postup pro praktické využití aplikace chemických přípravků k stabilizaci hydrochemických parametrů v odchovném systému.

Oblast výzkumu: Místem testování a ověření byl recirkulační rybochovný objekt firmy BioFish s.r.o. u Kamenice nad Lipou. Vlastní testování technologie optimalizace vybraných hydrochemických parametrů probíhalo v letech 2009-2011.

1. Úvod

1.1 Recirkulační zařízení dánského typu určené k chovu ryb

Celosvětová produkce ryb pro intenzivně narůstající lidskou populaci dlouhodobě meziročně roste. Zvýšená potřeba je saturována především akvakulturním chovem, který se podílí na celkové produkci ryb pro lidský konzum z více než 45% (FAO, 2010). Snaha o vyšší efektivitu produkce a minimalizaci vstupů vede k dynamickému rozvoji zejména v oblasti intenzivních chovů ryb, které jsou v řadě případů založeny na recirkulaci vody.

Jednou z variant jsou tzv. polouzavřené recirkulační systémy. Z evropských zemí byly vyvinuty především v Dánsku po přijetí legislativních opatření zpoplatňujících odběr vody a tvrdě postihujících vypouštění odpadních vod do recipientu. Jedná se o systémy s nízkým nárokem na energetické vstupy (1,9 – 2,3 kWh na kg produkce dle Lareau a kol. 2004). Jsou založeny na principu airliftů, které zajišťují cirkulaci vody a výměnu plynů (Mozes a kol. 2002). V odchovných žlabech je využívána rychlá cirkulace vody ekvivalentní výměně vody ve žlabu 5-10 krát za hodinu, voda je však recirkulována a doplňována pouze minimálně (5%). Jedná se tedy o velmi intenzivní způsob chovu ryb s velmi vysokou koncentrací chovaných ryb až na úrovni $60 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, proto bývá často diskutováno zachování welfare ryb (Ellis a kol. 2002). Nespornou výhodou jsou minimální nároky na výměnu vody. Potřeba vody, která se pohybuje kolem 10 m^3 na kg použité krmné směsi, představuje stokrát menší množství, než je tomu u klasických průtočných systémů (MacMillan 1992, Blancheton a kol. 2007). Nároky na kvalitu vody v systému jsou vzhledem k vysoké koncentraci ryb značné. Pro chov ryb v recirkulačních systémech je třeba dodržet parametry znázorněné v tabulce 1. Nevhodné parametry působí jako chronické stresory, subakutní koncentrace, snížení

nespecifické rezistence zhoršení využití potravy a růstu. V intenzivních chovech je asi tím nejdůležitějším tzv. sociální stres z vysoké koncentrace ryb na daný objem vody (overcrowding stress) a chemický stres z vysoké koncentrace metabolitů ve vodě a/nebo nedostatečné koncentrace kyslíku ve vodním prostředí. Vedle udržení vhodných podmínek prostředí je základním předpokladem úspěšného chovu ryb v intenzivních podmínkách dobrý zdravotní stav ryb. Jakákoliv infekce se může velmi rychle rozšířit a vyvolat hromadný úhyn ryb a tím velké hospodářské ztráty. Dalším předpokladem pro dosažení ekonomicky uspokojivých výsledků chovu je potřeba pro krmení využívat nejkvalitnější krmné směsi, které jsou však patřičně účinné pouze při zabezpečení optimálních podmínek z hlediska kvality vody a zdraví ryb. Všechny tyto faktory kladou vysoké nároky na odbornost obsluhy systému, jakýkoliv nevhodný zásah se velmi rychle a výrazně projeví na ekonomickém výsledku. Recirkulační systémy nejsou stabilními ekosystémy a jsou citlivé a závislé na provedených zásazích.

Tabulka 1: Doporučené hodnoty hydrochemických parametrů pro chov ryb v recirkulačních systémech Dánského typu (Bregnballe, 2010, upraveno)

| Parametr | Značka | Jednotka | Rozpětí hodnot | Nevhodné hodnoty |
|------------------------------|------------------------------|--------------------|------------------|------------------|
| Teplota | t | °C | Dle druhu | |
| Nasycení vody O ₂ | O ₂ | % | 70 - 250 | < 40 a > 250 |
| Nasycení vody N ₂ | N ₂ | % | 80 - 100 | > 101 |
| Amonné ionty | NH ₄ ⁺ | mg.l ⁻¹ | 0 - 2,5 (dle pH) | > 2,5 |
| Volný amoniak | NH ₃ | mg.l ⁻¹ | < 0,01 | > 0,025 |
| Dusitany | NO ₂ ⁻ | mg.l ⁻¹ | 0 - 0,5 | > 0,5 |
| Dusičnany | NO ₃ ⁻ | mg.l ⁻¹ | 100 - 200 | > 300 |
| pH | | | 6,5 - 7,5 | < 6,2 a > 8,0 |
| Alkalita | KNK | | 1 - 5 | < 1 |
| Chemická spotřeba kyslíku | CHSK _{Cr} | mg.l ⁻¹ | 25 - 100 | |
| Biologická spotřeba kyslíku | BSK ₅ | mg.l ⁻¹ | 5 - 20 | > 20 |
| Vápník | Ca ²⁺ | mg.l ⁻¹ | 5 - 50 | |

Recirkulační systémy jsou ve světě využívány k chovu mořských (Davis a Lock 1997, Blancheton 2000) i sladkovodních okrasných ryb (Buckling a kol. 1993). Systémy dánského modelu jsou ovšem vhodné zejména k produkčnímu chovu lososovitých ryb (Summerfelt a

kol. 2004a). V samotném Dánsku je více než 10% produkce lososovitých ryb realizováno právě v těchto recirkulačních systémech, využívány jsou i ve Francii (d'Orbcastel a kol. 2009), Izraeli, nebo v Severní Americe (Summerfelt a kol. 2004b). V ČR jsou v současnosti v provozu dvě zařízení využívající dánský model k produkci lososovitých ryb, a to rybí farmy v Žáru (Pstruhařství Mlýny) a Pravíkově (firma BioFish), další jsou ve fázi výstavby (Rybářství Kinský Žďár nad Sázavou, s.r.o) nebo přípravy projektu. Při neustále vzrůstajících nákladech na krmiva, rostoucích cenách energií a zpřísnujících se normách pro využívání zdrojů vody v podmínkách ČR představují tyto systémy jedno z mála možných řešení pro zachování konkurenceschopnosti v produkčním rybářství. S ohledem na uvedené skutečnosti i finanční podporu z OP Rybářství lze očekávat další rozšiřování této technologie.

1.2 Stavba recirkulačního systému

Recirkulační systém se skládá ze dvou hlavních částí, odchovné a filtrační (obr. 1). V odchovné části probíhá vlastní produkce (výkrm) ryb, proto je nutné zde zajistit dostatečný přísun vody optimálních parametrů, tedy především vysoké nasycení kyslíkem a nízké koncentrace sloučenin dusíku (amoniaku, dusitanů). Cirkulaci vody a výměnu plynů, především dotaci kyslíku provzdušňováním, v celém systému zajišťují vhodně umístěné nízkotlaké difusory optimálních parametrů. Ve filtrační části je voda zbavována pevných nečistot a rovněž zplodin metabolismu dusíku (biologická filtrace). Odstraňování nerozpuštěných částic probíhá často přímo v odchovné části (zpravidla na konci žlabu) systémem formou sedimentace pevných částic v sedimentačních kuželech nebo žlabech umístěných za difusory. Část ve vodě rozptýlených pevných částic se přesto dostává do biofiltru, odkud musí být pravidelně odstraňovány při odkalování, nebo bývá biologické části filtru předřazen mikrosítový bubnový filtr. Biologická část filtrace je vlastně bakteriální transformace amoniaku přes dusitany na dusičnany, které jsou pro lososovité ryby neškodné i při koncentracích v řádech stovek mg.l^{-1} a odtékají s vyměňovanou vodou (v systémech bez denitrifikačních zařízení neprobíhá redukce dusičnanů na plynný dusík). Tento mechanismus je zabezpečen biofiltrem, čili ve své podstatě substrátem porostlým tzv. bakteriálním biofilmem. Technicky bývá tato část filtrace řešena biofiltrem pohyblivým (substrát v neustálém rotačním pohybu), fixním (substrát spočívá na dně), či kombinací obou. Systémy jsou pochopitelně vybaveny i rozvody kyslíku pro přímou oxygenaci vody v případě kyslíkových deficitů nebo poruchy dmyhadla. Pro případ přerušení dodávky elektrické energie je systém vybaven záložním automaticky se spouštějícím diesel agregátem.

2. Recirkulační systém dánského typu v Pravíkově

Konkrétní model je vždy volen dle podmínek a možností daného provozu. Je možno různě kombinovat funkční prvky, vždy je však třeba mít na paměti funkčnost celého systému. Základem je dostatečná kapacita biofiltru vzhledem k množství odchovávaných ryb a jeho správná funkce, pro niž je důležité zásobení dostatečně prokysličenou vodou vhodného pH, nejlépe v hodnotách nad 7, které podpoří rozvoj žádaných kmenů nitrifikačních bakterií s vysokou účinností odbourávání amoniaku a dusitanů.

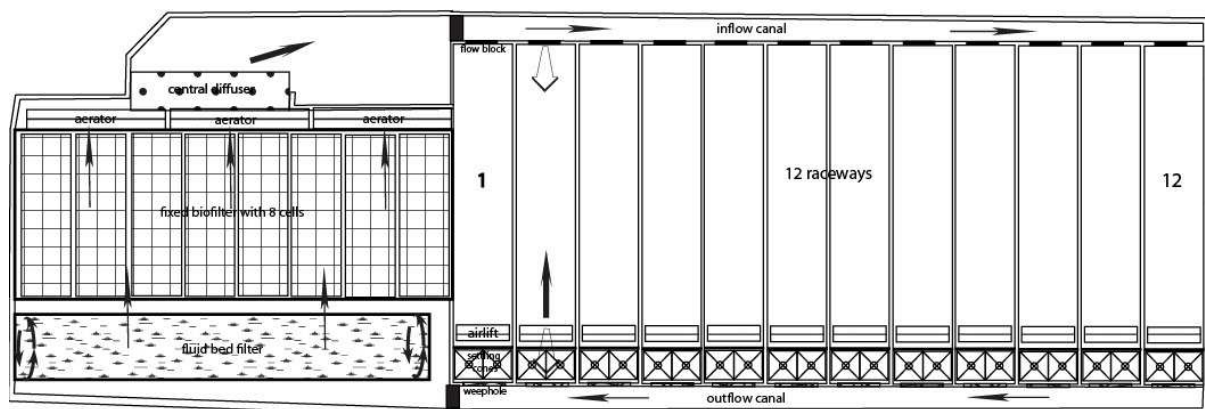
Příklad konkrétního řešení je na obr. 1. Jedná se o systém o celkovém objemu vody přibližně 1000 m³. Odchovná část je tvořena dvanácti paralelně řazenými žlaby délky 11 m a šířky 2 m. Výška vodního sloupce je v nich udržována na úrovni 1,60 m, objem vody v každém žlabu tedy činí přibližně 35 m³. Jednotlivé žlaby jsou vybaveny vlastním difusérem a dvojicí sedimentačních kuželů. Proti úniku ryb jsou žlaby zabezpečeny mříží umístěnou v celém profilu před sedimentačními kužely a za přítokovým oknem. Žlaby jsou navíc v odtokové části opatřeny otvorem pro slovování ryb. Zahrazením odtokového okna dlužemi a otevřením zmíněného otvoru lze snadno celý žlab potrubím vypustit přímo na třídící linku.

Biofiltr je funkčně rozlišen na jednokomorový plovoucí filtr a filtr ponořený. V obou částech se nachází substrát pro nitrifikační bakterie v podobě plastových elementů (PET výlisky) s velkým povrchem (800 m².m⁻³), které se liší svou specifickou hmotností. V plovoucím filtru se jedná o lehké (plovoucí) elementy o celkovém objemu 10 m³, které jsou pomocí difuséru uváděny do nepřetržitého rotačního pohybu. Elementy v ponořeném filtru (objem celkem 100m³) jsou těžké a klesají ke dnu. Z důvodu nutnosti pravidelného odkalování je tato část biofiltru rozdělena na osm stejně velkých komor, které lze při čištění (odkalování) jednotlivě zahradit dřevěnými dlužemi a zabránit tak přítoku vody z oblasti plovoucího filtru (obr. 6). Za filtračním blokem je řazen v hloubce zhruba 0,8 m tzv. mělký airlift (aerátor), který slouží zejména k odstranění nadbytečného CO₂ z vody a rovněž k aeraci. Následuje hlavní (hluboký) difusér (airlift), umístěný v hloubce 4,5 m. Tento difusér zabezpečuje mimo aerace vody její cirkulaci v celém systému. Pro zajištění pohybu vody je umístěna za ponořeným potrubím difuséru pevná stěna, ukončená ve spodní části na úrovni difuséru. To umožňuje díky vzduchu hnanému pod vodní hladinu zajistit její zvýšení o 8-10 cm. Tento difuzér poskytuje systému na maximální výkon kolem 300 l vody za sekundu. Průtok vody odchovným žlabem ovlivňuje především obsah metabolitů (NH₄⁺ a organických látek) ve vodě odtékající do biofiltru. Regulace průtoku vody odchovnými žlaby a rychlosti

proudění vody v odchovném žlabu byla řešena v ověřené technologii Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu (Vítek a kol. 2011), proto se tímto nebudeme dále zabývat.

Tabulka 2 zobrazuje hraniční hodnoty vybraných fyzikálně chemických parametrů naměřené v letech 2009 – 2011. Reakce vody byla díky nízké alkalitě přítokové vody ($0,2 \text{ mmol.l}^{-1}$) před začátkem aplikace mikromletého vápence nízká a značně kolísavá. Hodnoty pH se v prvních dvou hodinách po nakrmení ryb měnily i o více než 0,5. To při běžném pH, v té době kolem 6,5, znamenalo poměrně výrazný stres pro ryby (narušení acidobazické rovnováhy) i pro biofiltr, který pro svou správnou funkci, složení bakteriální mikroflóry a metabolismus nitrifikačních bakterií, potřebuje pH v rozmezí 6,8 – 7,8 (Bregnballe, 2010) (nejlépe přes 7,0). Zvýšené hodnoty amoniakálního dusíku byly zaznamenány výhradně prvotním nasazením systému v létě 2009, kdy byl biofiltr ve fázi prvotního „záběhu.“ Zvýšené hodnoty dusitanů byly v systému naměřeny nejen na začátku, při zabíhání biofiltru (to bylo očekáváno), ale i v roce 2010, kdy byly nitratační bakterie (bakterie druhé fáze nitrifikace jsou na zásahy citlivější) zahubeny nevhodným léčebným zásahem. V tu dobu byla v systému naměřena rekordní hodnota N-NO_2^- ($0,650 \text{ mg.l}^{-1}$). Ryby byly postiženy methemoglobinémií, ale nedošlo k většímu úhynu ryb díky včasné aplikaci dostatečného množství chloridů pro snížení účinku dusitanů. Nasycení vody kyslíkem v přítoku na odchovné žlaby se vždy pohybovalo kolem 100 %. Na odtoku z odchovných žlabů klesalo nasycení vody kyslíkem pod 70 % pouze krátkodobě v létě po nakrmení ryb při obsádce odchovného žlabu na úrovni 74 kg.m^{-3} .

Obrázek 1: Schéma recirkulačního zařízení v Pravíkově



Tabulka 2. Hraniční hodnoty vybraných fyzikálně chemických parametrů naměřené v Pravíkově v letech 2009 – 2011.

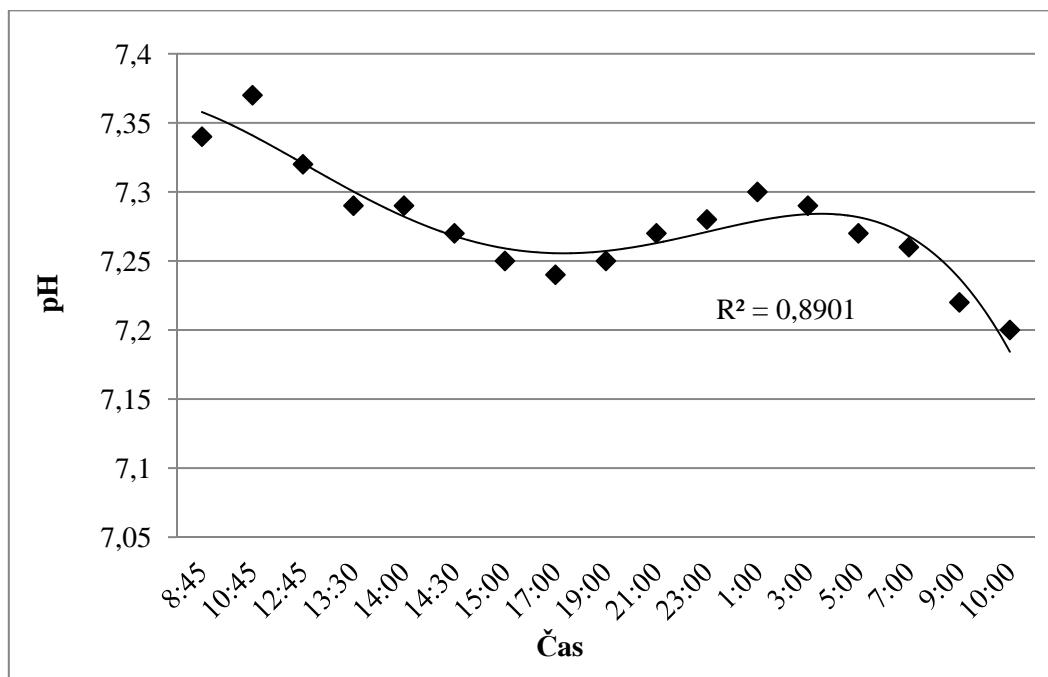
| Parametr | Značka | Jednotka | minimum | maximum |
|-------------------------|--------------------------------|----------------------|---------|---------|
| Reakce vody | pH | | 6 | 7,5 |
| Alkalita | KNK | mmol.l ⁻¹ | 0,21 | 1,83 |
| Amoniakální dusík | N-NH ₄ ⁺ | mg.l ⁻¹ | 0,00 | 0,92 |
| Dusitanový dusík | N-NO ₂ ⁻ | mg.l ⁻¹ | 0,000 | 0,650 |
| Kyslík: přítok na žlaby | O ₂ | % | 97 | 103 |
| Kyslík: odtok ze žlabů | O ₂ | % | 68 | 98 |

3. KNK (Kyselinová neutralizační kapacita, alkalita)

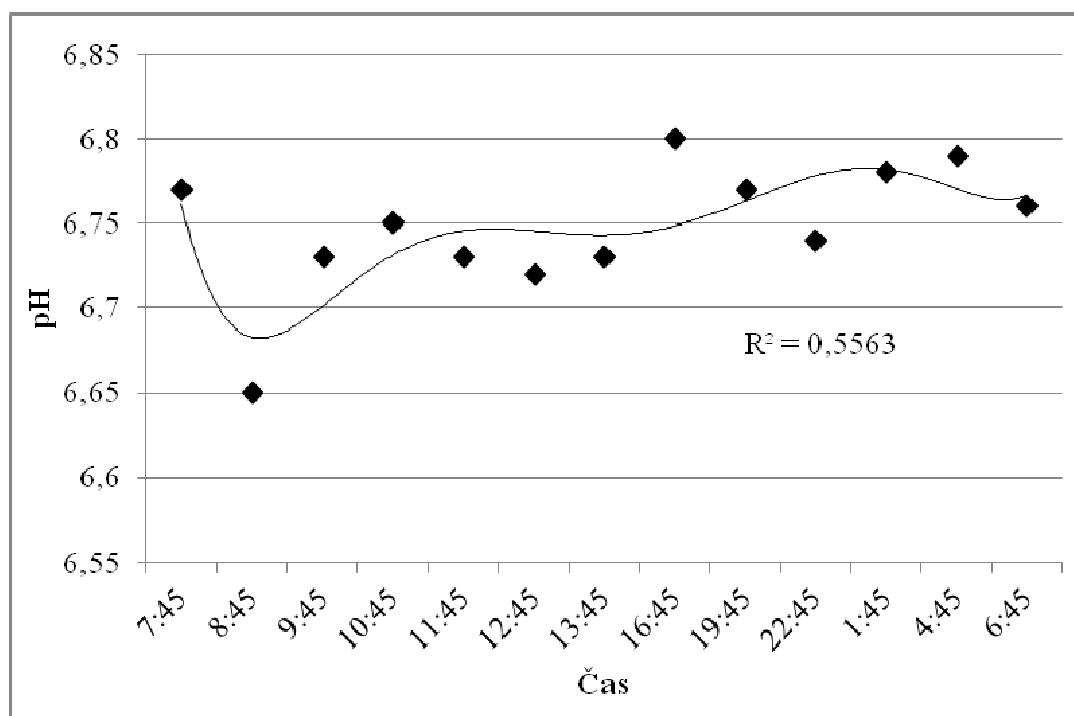
Náhlé výkyvy pH negativně ovlivňují homeostázi ryb. A to nejen raných stádií, ale i juvenilních a adultních jedinců. Za stabilitu pH ve vodním prostředí odpovídá především hydrogenuhličitanový komplex (CO₂ – HCO₃⁻ – CO₃²⁻). KNK je hodnota definující kolik silné kyseliny nebo hydroxidu je schopen pojmout 1 litr vody, než se skokově změní pH. Stanovuje se v mmol.l⁻¹. Hodnota KNK tak nepřímo informuje o množství vápníku a hořčíku rozpuštěném ve vodě. Platí, že pokud je hodnota KNK do 2 mmol.l⁻¹, reakce vody kolísá. Pokud je KNK 2 – 5 mmol.l⁻¹, pH je relativně stabilní, v případě překročení hodnoty 5 mmol.l⁻¹ se již téměř nemění. Vzhledem k využívaným zdrojům vody a jejímu množství dodávanému do systému je ovlivnění pH vody v systému přítokem minimální. Díky intenzitě chovu ryb je pH vody v systému výrazně ovlivněno hlavně výkyvy v intenzitě metabolismu ryb, a to zejména po nakrmení. Biofiltr je díky poměrně stálému dodávání CO₂ do systému, způsobenému metabolismem aerobních bakterií, významným zdrojem kyseliny uhličitě (CO₂ + H₂O → H₂CO₃), která snižuje pH vody v systému. Na rozdíl od změn v intenzitě metabolismu ryb ale není příčinou prudkých výkyvů. To potvrdila i naše kontinuální a jednorázová měření. V době, kdy byl do systému dodáván mikromletý vápenec a KNK převyšovalo 1 mmol.l⁻¹, pH v systému se drželo na úrovni neklesající pod 7,0. V tomto případě bylo do systému ráno před měřením jednorázově přidáno 50 kg mikromletého vápence, který se během dne postupně vyplavoval ze systému. Průběh změn pH v systému během dne zobrazuje graf 1. Nárůst pH na začátku měření indikuje rozpouštění přidaného vápence. Druhé zvýšení pH indikuje vyublávání CO₂ ze systému pomocí difuserů po poklesu intenzity metabolismu ryb (Cai a Summerfelt, 1992, Iftikar a kol., 2008, Romero a kol.,

2006). Další pokles je způsoben vyplavováním vápence ze systému (snižovala se samozřejmě i hodnota KNK). Graf 2 znázorňuje změny pH v systému během dne při KNK 0,3 mmol.l⁻¹. Do systému bylo ten den nadávkováno jen 8 kg mikromletého vápence pomocí krmítka s hodinovým strojkem od 8:00 do 18:00 hodin. Prvotní pokles pH, i přes dávkování vápence, je způsoben jeho zachycením ve vypnuté části biofiltru s plovoucí náplní z důvodu odkalování. Následný pík pH je způsoben jeho spuštěním a jednorázovou dotací většího množství vápence do systému (cca 1 kg). Vzestup pH přes noc a ráno způsobilo vyublání CO₂ z vody pomocí difuserů.

Graf 1: Průběh změn pH v systému během dne v závislosti na vyplavování vápence a metabolismu ryb.



Graf 2: Průběh změn pH v systému během dne při KNK 0,3 mmol.l⁻¹.



Potřebu regulace KNK uvádí metodika FAO k využití recirkulačních systémů kde Bregnballe (2010) doporučuje udržovat v systému KNK na úrovni 1 – 5 mmol.l⁻¹ se zdůvodněním, že při KNK nižším pod 1 mmol.l⁻¹ je pH v systému nestabilní. To potvrzují i námi zjištěné výsledky z recirkulačního zařízení v Pravíkově. Zároveň jsme zjistili, že při pH nižším v průměru o 0,6 byla účinnost biofiltru o 4% nižší.

4. Technologie ovlivnění KNK

K ovlivnění reakce vody v systému pro zajištění správného pH je v praxi používáno několik způsobů. Jednou z velice rychlých, ale poměrně drahých a na techniku náročných metod, je využití automatického dávkování kalcinované sody (Na₂CO₃) (Kouřil a kol. 2008). Tato metoda umožňuje rychlé ovlivnění pH, ale nezajišťuje dlouhodobější stabilitu hydrogenuhličitanového údržného komplexu. Další metodou je vkládání košů s vápencovým šterkem, nebo zbytky z ulit mořských plžů a lastur mlžů. Toto je metoda poměrně jednoduchá, ale použitelné suroviny (lastury) nejsou celoročně běžně k dispozici. Jednou z nejjednodušších metod ovlivnění KNK v systému, zároveň i nejpoužívanější v rybníkářství, je dávkování mikromletého vápence. Pomineme-li příměsi ve vápenci obsažené (cca 5 %, hlavně MgCO₃), je molární hmotnost uhličitanu vápenatého 100 g.mol⁻¹. Potřebujeme-li tedy mít v systému KNK rovno 2 mmol.l⁻¹ museli bychom do litru čisté vody (KNK = 0 mmol.l⁻¹)

přidat 0,2 g uhličitanu vápenatého. Z tohoto vztahu lze odvodit vzorec, který po započítání velikosti přítoku a KNK přítokové vody jednoduše určí denní dávku mikromletého vápence potřebnou k udržení požadovaného KNK v systému a tím i k udržení stabilní reakce vody v průběhu dne (Vzorec 1).

Vzorec 1:

$$x = \left(0,2 - \frac{KNK}{10}\right) * p * 86,4$$

Kde: x = denní dávka mikromletého vápence v kg

KNK = KNK přítokové vody [mmol.l⁻¹]

p = velikost přítoku v l.s⁻¹

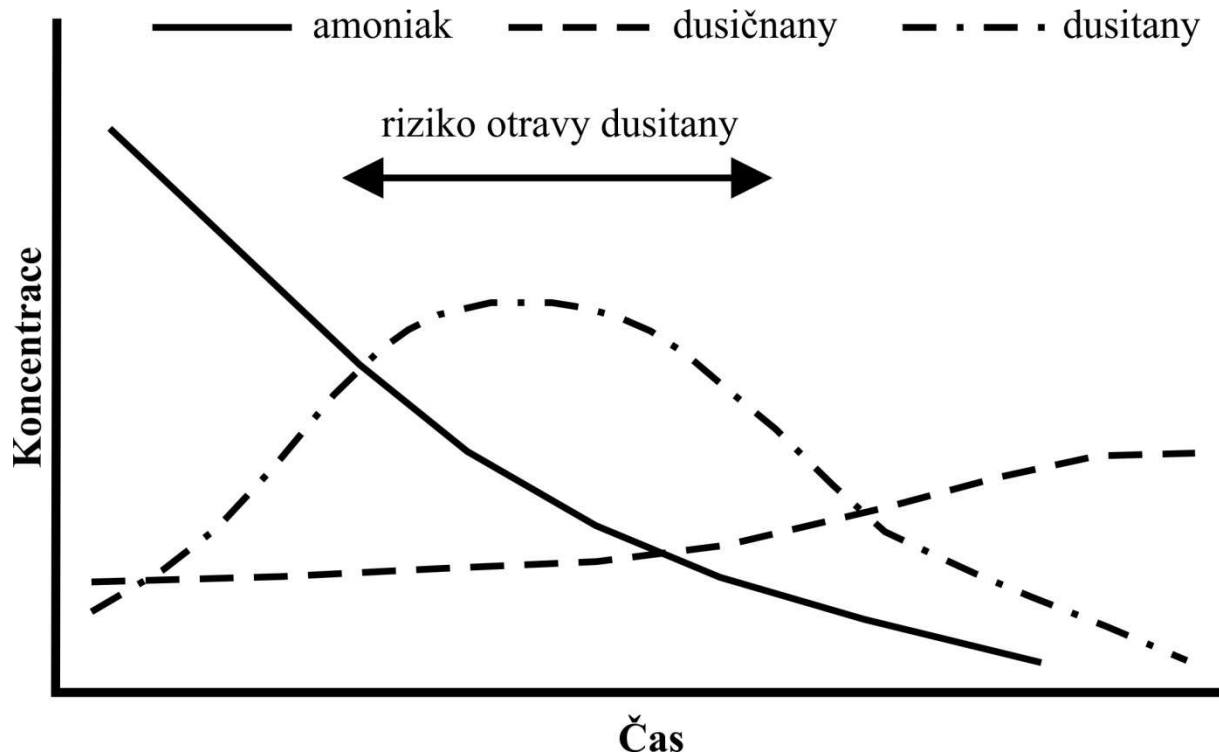
Pro zjednodušení výpočtu množství mikromletého vápence aplikovaného do systému jsme vypracovali jednoduchou tabulku (Tab. 4). Mikromletý vápenec by měl být do systému pokud možno dávkován postupně během celého dne pomocí automatického zařízení např. vápnicího mlýnku. V praxi se rovněž osvědčila metoda dávkování vápence pomocí krmítka s hodinovým strojkem. Tato metoda zajišťuje dávkování vápence do systému po dobu 10 hodin po natažení krmítka, což umožňuje dávkovat vápenec ve dvou dávkách po dobu 20 hodin denně, když je krmítko nataženo ráno, před krmením, a odpoledne. Dávkování vápence po dobu 20 hodin je pro provoz dostačující, protože stabilizuje reakci v systému přes den, kdy díky krmení ryb hrozí největší výkyvy pH. Nevýhodou této metody dávkování je, že i větší verze krmítka, běžně dostupná na trhu, je schopna za 10 hodin nadávkovat maximálně 8 kg vápence. Proto je při potřebě větší dávky vápence nutno použít krmítek více a při této „extrémní“ zátěži (krmítko je určeno pro maximálně 5 kg) je hodinový strojek nadměrně opotřebováván a vyžaduje častější opravy, což tuto metodu prodražuje.

5. Dusitany

Dusitany zpravidla doprovázejí ve vodě dusičnany a formy amoniakálního dusíku. Vzhledem ke své chemické a biochemické nestálosti se obvykle vyskytují ve velmi malých a často jen stopových koncentracích. V přírodních vodách dusitany mezi anorganickými

formami dusíku nikdy nedominují, protože v aerobních podmínkách jsou rychle transformovány nitrifikací na dusičnany. Naopak v anoxických podmínkách přechází biologickou denitrifikací na elementární dusík respektive N_2O . Proto lze dusitany často prokázat v nízkých koncentracích jako meziprodukt chemických a biochemických transformací dusíku (Pitter, 1999). Průměrná hodnota dusitanového dusíku v pitných vodách z 8 regionů ČR byla $0,004 \text{ mg.l}^{-1}$ (NO_2^- $0,026 \text{ mg.l}^{-1}$) v povrchových vodách se koncentrace dusitanového dusíku pohybují od $0,004 - 0,179 \text{ mg.l}^{-1}$ (Pitter, 1999). Zvýšené koncentrace dusitanů (řádově desetiny, ale i jednotky mg.l^{-1} $N-NO_2^-$) se mohou vyskytovat v recirkulačních systémech pro intenzivní chov hospodářských a okrasných ryb (Svobodová a kol., 2005; Dvořák, 2004). Zvýšené koncentrace dusitanů se v recirkulačních systémech vyskytují zejména bezprostředně po zahájení provozu, nebo v důsledku nerovnováh v procesu nitrifikace (Graf 3) (Bregnballe, 2010, Kamstra a kol., 1996; Avnimelech a kol., 1986). Proces nitrifikace je v recirkulačních systémech využíván v biofiltrech k biologickému odbourání amoniaku, hlavního produktu dusíkatého metabolismu ryb (Wood, 1993). Během nitrifikace dochází k biologické oxidaci amoniakálního dusíku na dusitany a následně na dusičnany, které jsou pro ryby téměř neškodné (LC_{50} se u $N-NO_3^-$ pohybuje v řádech stovek mg.l^{-1}). Pokud je druhá fáze nitrifikace pomalá (nedostatečný rozvoj nitratačních bakterií, nebo jejich odumření v důsledku léčebného zásahu), dochází v systému k hromadění dusitanů, které bývá příčinou onemocnění ryb a někdy i příčinou jejich hromadného úhynu (Svobodová a kol., 2005). Mezi faktory ovlivňující nitrifikaci patří pH, teplota, koncentrace rozpuštěného kyslíku, počet nitrifikačních bakterií nebo látky nitrifikaci inhibující, jako methylenová modř, antibiotika a některé organické látky (anilín, dodecylamin, p-nitrobenzaldehyd) (Russo a Thurson, 1991).

Graf 3: Změny obsahu jednotlivých forem dusíkatých sloučenin v průběhu přirozené kolonizace biofiltru nitrifikačními bakteriemi (Bregnballe, 2010, přeloženo). Hodnoty nejsou znázorněny záměrně, protože jejich výše a časový průběh změn jejich poměrů je závislý na biomase vodních organismů v systému, intenzitě jejich krmení a hlavně teplotě vody.



Sladkovodní ryby jsou vůči svému prostředí hyperosmotickými organismy. Ztrátu iontů močí a pasivním transportem ve směru osmotického gradientu vyrovnávají aktivním příjmem iontů z prostředí pomocí chloridových buněk umístěných v epitelu žaber (Maetz, 1971). Chloridové buňky aktivně vyměňují vodíkové ionty za stejný počet sodných iontů a hydrogenuhličitanové ionty za stejný počet chloridových iontů z vodního prostředí (Love, 1980). Problém s dusitany ve sladké vodě pramení v afinitě NO_2^- k výměně chloridů za HCO_3^- , takže pokud jsou v okolní vodě NO_2^- , ryby je aktivně přijímají na úkor části přijímaných chloridů. To potvrzuje i fakt, že ryby s rychlejším příjmem chloridů (pstruh duhový, okoun říční, štika obecná, candát obecný) jsou citlivější k dusitanům než ryby s nízkou rychlostí příjmu chloridů (kapr obecný, úhoř říční, lín obecný) (Williams a Eddy, 1986). Koncentrace dusitanů v krevní plazmě může být až šedesátkrát vyšší, než v okolní vodě (Fontenot a kol., 1999). Dusitany z krevní plazmy prostupují do červených krvinek, kde se vážou na železitou

složku hemoglobinu a přeměňují hemoglobin na methemoglobin, který není schopen přenosu O₂ (Cameron, 1971). Zvýšený obsah methemoglobinu v krvi se projevuje hnědým zbarvením žaber. Hnědá barva žaber byla patrná u tilapie nilské již při obsahu methemoglobinu v krvi cca 20 % (Svobodová a kol., 2005).

Crawford a Allen (1977) zjistili, že toxicita dusitanů je silně závislá na salinitě vody. V mořské vodě zaznamenali 50 až 100 krát nižší úmrtnost ryb než ve sladké při stejné koncentraci dusitanů. Závislost toxicity dusitanů na obsahu chloridů ve vodě je lineární (Russo a Thurson, 1977; Palachek a Tomasso, 1984; McConell, 1985; Máchová a Svobodová, 2001). V chovech ryb se z toho důvodu doporučuje sledovat vzájemný poměr mezi Cl⁻ a N-NO₂⁻. V chovech lososovitých ryb by tento poměr (chloridové číslo) neměl klesnout pod 17 a u ostatních ryb pod 8 (EIFAC, 1984; Svobodová a kol., 1986).

6. Technologie ovlivnění toxicity dusitanů pomocí úpravy obsahu chloridů ve vodě.

Podle doporučení EIFAC (1984) a námi naměřených hodnot obsahu dusitanového dusíku (N-NO₂⁻) v systémech v Pravíkově (0,001 – 0,650 mg.l⁻¹) doporučujeme chovatelům udržovat v systému koncentraci chloridů na úrovni minimálně 15 mg.l⁻¹. Tato koncentrace by měla bezpečně předejít výrazným problémům s dusitany v recirkulačních systémech pro lososovité ryby až do koncentrace téměř 0,5 mg.l⁻¹ N-NO₂⁻, nebo přinejmenším prodloužit dobu potřebnou k úpravě obsahu chloridů v odchovném prostředí v případě zjištění problému bez podstatných ztrát. V závislosti na použité analytické metodě měříme ve vodě obsahy dusitanů (NO₂⁻), nebo dusitanového dusíku (N-NO₂⁻). Pro tyto dvě hodnoty platí přepočtové koeficienty znázorněné v tabulce 3. Pokud naměříme ve vodě 1 mg N-NO₂⁻, znamená to, že obsah NO₂⁻ je 3,2582 mg.l⁻¹ a pokud naměříme ve vodě 1mg.l⁻¹ NO₂⁻, voda obsahuje 0,3044 mg.l⁻¹ N-NO₂⁻.

Tabulka 3. Přepočtové koeficienty naměřených hodnot dusitanové formy dusíku.

| Vyjádření dané | Vyjádření požadované | Přepočítávací koeficient |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| N-NO ₂ ⁻ | NO ₂ ⁻ | 3,2845 |
| NO ₂ ⁻ | N-NO ₂ ⁻ | 0,3045 |

Obsah chloridů ve vodě je možno upravovat podle několika parametrů. Pokud chceme obsah chloridů upravovat přesně, základním předpokladem je vždy analýza jejich obsahu ve vodě. Tu je možné provést přímo na farmě pomocí přenosných spektrofotometrů s využitím komerčních setů, nebo ji nechat udělat za poplatek v laboratoři (cca 40 Kč za stanovení Cl⁻ v jednom vzorku). Správný chovatel ryb by měl vědět, jaký obsah chloridů má a jakou intenzitu má přítok do jeho odchovného zařízení, proto lze doporučit provádět analýzy přítokové vody alespoň jednou a vody v odchovném zařízení preventivně 3 – 4x ročně. Na základě těchto údajů je možné precizně stanovit denní dávku chloridů (nejčastěji ve formě NaCl), která je potřeba k udržení potřebného obsahu chloridů v systému. Výpočet denní dávky NaCl v kg potřebné k udržení daného obsahu chloridů v systému (Vzorec 2):

Vzorec 2:

$$x = (a - b) * p * 0,143$$

Kde: x = denní dávka NaCl potřebná k udržení daného obsahu chloridů v systému [kg]

a = cílový obsah chloridů [mg.l⁻¹]

b = obsah chloridů v přítoku [mg.l⁻¹]

p = přítok [l.s⁻¹]

Pro zjednodušení praktické aplikace soli jsme vypracovali jednoduchou tabulku (Tabulka 5). Pro výpočet jednorázové dávky NaCl potřebné k jednorázovému zvýšení obsahu chloridů (při nedostatečném zaběhnutí, nebo „zabití“ biofiltru) je musíme použít vzorec jiný (Vzorec 3). Metoda s precizním stanovením chloridů je díky ceně vybavení nebo laboratorních stanovení poměrně nákladná. Cena přenosných spektrofotometrů (např. fotometr PF-12) se pohybuje okolo 27 000 Kč a cena jedno stanovení se díky spotřebě chemikálií, dle stanovovaného parametru, pohybuje okolo 8 Kč.

Vzorec 3:

$$x = (a - b) * 1,65 * V$$

Kde: x = jednorázová dávka NaCl [g]

a = cílový obsah chloridů [mg.l^{-1}]

b = obsah chloridů v systému [mg.l^{-1}]

V = objem systému [m^3]

Další možností kontroly obsahu chloridů ve vodě, i když nepřímou, je odhad obsahu chloridů ve vodě na základě měření konduktivity. Konduktivita je závislá na množství iontů rozpuštěných ve vodě. Samozřejmě není možno počítat s tím, že by ve vodě byly pouze ionty chloridové. Běžně dostupná povrchová i podzemní voda používaná v našich podmínkách jako zdroj vody pro rybochovné systémy obsahuje i ionty síranové, dusičnanové, amonné, hořečnaté, draselné, křemičité a další. Ty ale většinou ve vodě nejsou obsaženy ve vyšších koncentracích a vodivost způsobená těmito ionty běžně nepřesahuje hodnoty kolem 20 mS.m^{-1} . Naopak obsah iontů chloridových značně kolísá v závislosti na lokalitě (Lednické rybníky – desítky mg.l^{-1} vs. rybí farma v Pravíkově – jednotky mg.l^{-1}). Tomu odpovídá i vodivost naměřená v dané lokalitě (Lednické rybníky kolem 130 mS.m^{-1} , Pravíkov 6 – 9 mS.m^{-1}). Z námi naměřených dat a modelování v laboratoři vyplývá, že závislost vodivosti na obsahu chloridů ve vodě je lineární (Graf 1). Drobné odchylky jednotlivých bodů od linie regrese byly pravděpodobně způsobeny nepřesností vážení přidávaného chloridu sodného. Vývoj závislosti vodivosti vody na obsahu chloridů charakterizuje závislost:

$$y = 0,318x$$

Kde: x = obsah chloridů ve vodě [mg.l^{-1}]

y = vodivost [mS.m^{-1}]

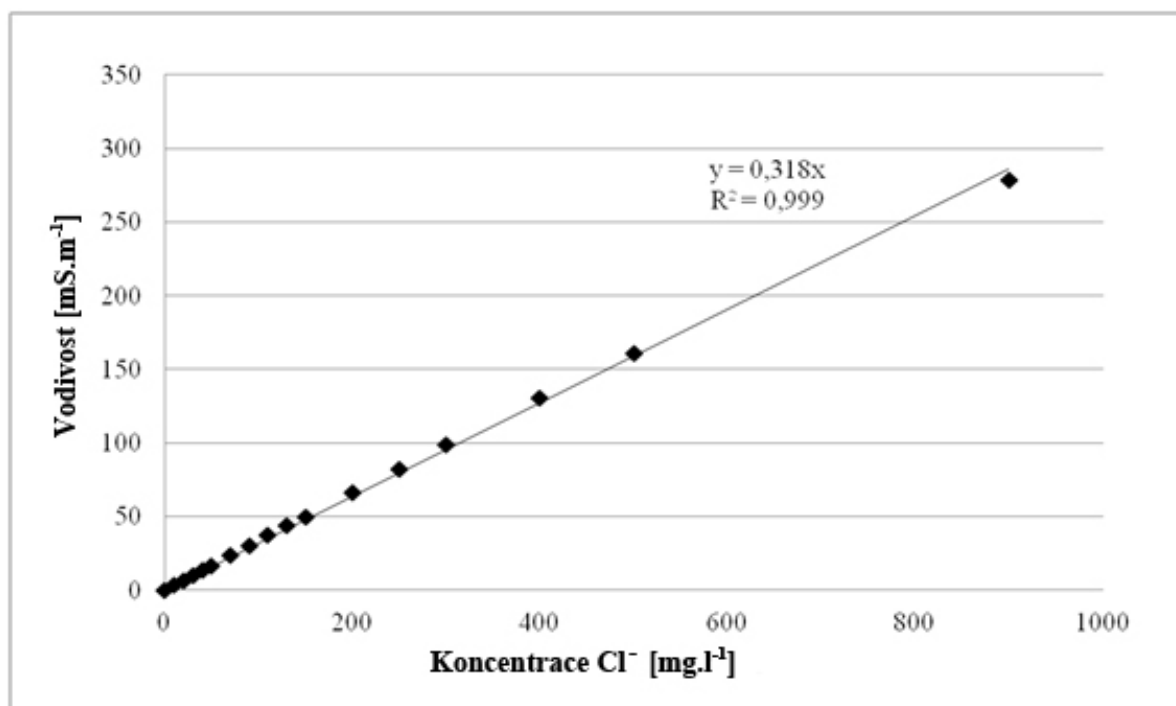
Tato rovnice vypovídá o lineárním průběhu závislosti vodivosti na obsahu chloridů ve vodě s pravděpodobností 99,9 % (viz koeficient R^2 v grafu 1).

Z dané závislosti lze při znalosti místních podmínek (konduktivita a obsah chloridů v systému) nejen odhadnout přibližný obsah chloridů v systému, ale i následně kontrolovat

účinnost provedeného opatření pomocí jednoduchých a v porovnání s předchozí metodou výrazně levnějších přístrojů (nejlevnější konduktometry lze pořídit od 1 400 Kč). Tento postup může být aplikován dvěma způsoby lišícími se pouze začátkem. První, mnohem přesnější, zahrnuje analýzu chloridů. Od daného obsahu chloridů se pak odvíjí přesné dávkování, jako ve výše zmíněné metodě, a kontrola jejich obsahu a další úprava jejich obsahu probíhá na základě měření vodivosti. Tento postup doporučujeme pro dobrou chovatelskou praxi. Druhý postup spočívá ve změření vodivosti, odhadu obsahu chloridů podle naměřené hodnoty a dávkování chloridů podle odhadu.

Pro udržení bezpečného poměru obsahu chloridů k dusitanům (chloridové číslo) lze díky výše zmíněné lineární závislosti konduktivity na obsahu chloridů „vynechat“ měření chloridů a vztáhnout obsah dusitanů přímo k vodivosti. Pro bezpečné udržení chloridového čísla na úrovni 20 i při $0,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ N-NO}_2^-$ obsažených ve vodě, je třeba vodivost vody v systému udržovat pomocí přídatku NaCl na úrovni minimálně o 3 mS.m^{-1} vyšší, než má přítoková voda (podle místních podmínek). Pro dodržení tohoto navýšení vodivosti vody oproti přítoku je třeba přidat do systému denně $1,43 \text{ kg NaCl}$ na každý $1.\text{s}^{-1}$ přítoku do systému. Jednorázová dávka pro zvýšení obsahu chloridů je opět počítána podle vzorce 3. Pro jednoduché určení potřebné denní dávky NaCl pro zvýšení obsahu chloridů na potřebnou hodnotu lze využít opět tabulku 5.

Graf 1: Závislost vodivosti vody na obsahu chloridů.



Ekonomický přínos

Předpokládané ekonomické a další přínosy jsou v zefektivnění chovu ryb v systémech intenzivního chovu, využívajících recirkulačních nebo průtočných systému s biologickým čištěním vody. Ekonomické přínosy lze vyjádřit v optimalizaci welfare ryb a tím zvýšení jejich přírůstku, což se finančně promítne v úspoře použitého krmiva. Dalším ekonomickým přínosem jsou nižší náklady na chemický rozbor vody. Dalším již obtížněji kvantifikovatelným efektem je snížení ztrát ryb v případě špatné funkce biofiltrů (nedostatečné zapracování, léčebný zásah apod.) a tím zhoršení hydrochemických parametrů chovného prostředí, kdy použití technologie ke stabilizaci KNK (pH) a potlačení toxického efektu dusitanového dusíku vhodnou dávkou chloridů, což výrazně eliminuje ztráty ryb úhynem. Celkově lze shrnout přínosy uplatnění technologie do zlepšení hydrochemických parametrů recirkulačních a průtočných systémů a zefektivnění práce obsluhy těchto zařízení.

Novost technologie je v zavedení jednoduché techniky regulace a optimalizace vybraných hydrochemických parametrů v systémech s recirkulací vody, případně i průtočných, určených k intenzivnímu chovu ryb.

Závěr

V letech 2009-2011 bylo provedeno sledování dynamiky hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb. Na základě znalosti kvality vody v systému a vody přitékající byly provedeny zásahy zaměřené na stabilizaci hydrochemických parametrů, konkrétně hodnot KNK a působení dusitanů, a optimalizace jejich hodnot pro činnost biofiltru. Na základě testování různých postupů byla vypracována a v provozu ověřena technologie úpravy uvedených parametrů. Zároveň byla vyvinuta metoda dávkování chloridu sodného pro zvýšení obsahu chloridů ve vodě (snížení toxicity dusitanů pro ryby), a to na základě jednoduchého stanovení vodivosti a množství vody do systému přitékající.

Poděkování

Technologie regulace vybraných hydrochemických parametrů vznikla za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QI91C001 „Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb“ a s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

7. Seznam použité literatury

Avnimelech, Y., Weber, B., Hopher, B., Milstein, A., Zorn, M., 1986. Studies in circulated fish ponds: organic matter recycling and nitrogen transformation. *Aquaculture and Fisheries Management* 17, 231 – 242.

Blancheton, J.P., 2000. Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species. *Aquacultural Engineering*, 22, 17-31.

Blancheton, J.P., Piedrahita, R., Eding, E.H., Roque d'orbcastel, E., Lemarie, G., Bergheim, A., Fivelstad, S., 2007. Intensification of landbased aquaculture production in single pass and reuse systems. In: *Aquaculture Engineering and Environment*, (Chapter 2).

Bregnballe, J., 2010, A guide to recirculation aquaculture. Eurofish, Copenhagen, Denmark, 66.

Buckling, R.A., Baird, C.D., Watson, C.A., Chapman, F.A., 1993. Energy use of recycling water aquaculture systems for ornamental fish production. In: *Circular 1095*. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, FL, 5 s.

CAI, Y., SUMMERFELT, R.C. , 1992. Effects of temperature and size on oxygen consumption and ammonia excretion by walleye. *Aquaculture*, 104 (1-2), 127-138.

Cameron, J. N., 1971. Methemoglobine in erythrocytes of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology* 40, 743 – 749.

- Crawford, R. E., Allen, G. H., 1977. Seawater inhibition of nitrite toxicity to Chinook salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 106, 105 – 109.
- Davis, J.T., Lock, J.T., 1997. Culture of largemouth bass fingerlings. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), Aqua KE Gov Doc, Technical Publication 201, 4 s.
- d'Orbcastel, E.R., Blancheton, J.P., Belaud, A., 2009. Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. *Aquacultural Engineering*, 40, 135-143.
- Dvořák, P., 2004. Vybraná specifika onemocnění akvarijských ryb. *Bulletin VÚRH Vodňany* 40, 101 – 108.
- European Inland Fisheries Advisory Commission, 1984 (EIFAC). Water quality criteria for European freshwater fish: Report on nitrite and freshwater fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations. EIFAC Technical Paper 46, 19.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 61, 493-531.
- Farrell, A.P., 2008. Comparisons of swimming performance in rainbow trout using constant acceleration and critical swimming speed tests. *Journal of Fish Biology*, 72, 693-710.
- Fontenot, Q. C., Isely, J. J., Tomasso, J. R., 1999. Characterisation of inhibition of nitrite uptake in shortnose sturgeon fingerlings. *Journal of Aquatic Animal Health* 11, 76 – 80.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2010. The state of world fisheries and aquaculture 2010. FAO, Rome. 197 s.
- Iftikar, F.I., Patel, M., Ip, Y.K., Wood, C.M, 2008. The influence of feeding on aerial and aquatic oxygen consumption, nitrogenous waste excretion, and metabolic fuel usage in the African lungfish, *Protopterus annectens*. *Canadian Journal of Zoology* 86 (8) , 790-800.
- Kamstra, A., Span, J. A., Van Weerd, J. H., 1996. The acute toxicity and sublethal effects of nitrites on growth and feed utilization of European eel, *Anquilla anquilla*, (L). *Aquaculture Research* 27, 903 – 911.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Stejskal, V., 2008. Recirkulační akvakulturní systémy pro chov ryb. č. 85. Vodňany. ISBN 978-80-85887-74-7.

Lareau, S., Champagne, R., Gilbert, E., Vandenberg, G., 2004. Rapport sur les missions d'évaluation de la technologie danoise pour l'élevage en eau douce des salmonides.

Máchová, J., Svobodová, Z., 2001. Nitrite toxicity to fish under experimental and farming conditions – poster č. P-275, 10th International conference of EAAP Diseases of Fish and Shellfish, Dublin, 9th – 14th September 2001.

MacMillan, R., 1992. Economic implications of water quality management for a commercial trout farm. In: Blake, J., Donald, J., Magette, W. (Eds.), National Livestock, Poultry, and Aquaculture Waste Management. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, 185–190.

Maetz, J., 1971. Fish gills: Mechanism of salt transfer in fresh water and sea water. Physiological Transactions of Royal Society of London Series B Biological Sciences. 262, 209 – 249.

McConell, R., 1985. Toxicity of nitrite to fathead minnow. Colorado department of Health File Report, Denver.

Mozes, N., Eshchar, M., Conijeski, D., Fediuk, M., Ashkenazy, A., Milanez, F., 2002. Marine water recirculating systems in Israel-performance, production cost analysis and rationale for desert conditions. In: Rakestraw, T., Douglas, L., Flick, G. (Eds.), Proceeding of the Fourth International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, VA, USA, July 18–21, 2002, 404–413

Palachek, R. M., Tomasso, J. R., 1984. Toxicity of nitrites to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*Tilapia aurea*) and largemouth bass (*Micropterus salmoides*): evidence for nitrite exclusion mechanism. Canadian Journal of Fish Aquatic Science 41, 1739 – 1744.

Pitter, P., 1999. Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Romero, C. M., Vanella, F., Tapella, F., Lovrich, G.A. 2006. Assimilation and oxygen uptake associated with two different feeding habits of *Munida gregaria* (= *M. subrugosa*) (Crustacea, Decapoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 333 (1), 40-48.

- Russo, R. C., Thurson, R. V., 1977. The acute toxicity of nitrite to fishes. In: Tubb, R. A., (ed.). *Recent Advances in Fish Toxicity*. EPA-600/3-77-085. US Environmental Protection Agency, Corvallis, OR. 118 – 131.
- Russo, R. C., Thurson, R. V., 1991. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes. In: Brune, D. E., Tomasso, J. R., (eds.). *Aquaculture and Water Quality*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, 58 – 89.
- Summerfelt, S.T., Davidson, J.W., Waldrop, T.B., Tsukuda, S.M., Bebak-Williams, J. 2004a. A partial-reuse system for coldwater aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 31, 157-181.
- Summerfelt, S.T., Wilton, G., Roberts, D., Rimmer, T., Fonkalsrud, K., 2004b. Developments in recirculating systems for Arctic char culture in North America. *Aquacultural Engineering*, 30, 31-71.
- Svobodová, Z., Máhcová, J., Poleszczuk, G., Hůda, J., Hamáčková, J., Kroupová, H, 2005. Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating system: three case studies. *Acta veterinaria Brno* 74, 129 – 137.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Palačková, J. (1986): *Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb*. Edice metodik VÚRH ve Vodňanech, Vodňany, 36 p.
- Vítek, T., Kopp, R., Lang, Š., Brabec, T., Mareš, J., 2011. *Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu*. Mendelova univerzita v Brně, ISBN 978-80-7375-571-3.
- Williams, E. M., Eddy, F. B., 1986. Chlorine uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity. *Journal of Comparative Physiology B*, 156, 867 – 872.
- Wood, C. M., 1993. Ammonia and urea metabolism and excretion. In: Ewans, D. H. (Ed) *Physiology of Fishes*. CRC Press Boca Raton, 379 – 425.

8. Seznam předcházejících publikací

KOPP, R., ZIKOVÁ, A., BRABEC, T., LANG, Š., VÍTEK, T., MAREŠ, J., 2009: Dusitany v recirkulačním systému rybí farmy farmy Pravíkov. In KOPP, R. "60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně". 1. vyd. Brno: MZLU Brno, 2009, s. 105--110. ISBN 978-80-7375-358-0.

KOUŘIL, J., MAREŠ, J., POKORNÝ, J., ADÁMEK, Z., KOLÁŘOVÁ, J., PALÍKOVÁ, M., 2008: Chov lososovitých druhů ryb, lipana a síhů. 1. vyd. Vodňany: JU v Českých Budějovicích, s. 63--97. ISBN 978-80-85887-80-8.

LANG, Š., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., VÍTEK, T., MAREŠ, J., 2011: Diurnální změny vybraných hydrochemických parametrů na recirkulačním systému dánského typu při různých teplotách vody. Bulletin Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického Vodňany. 2010. sv. 46, č. 4, s. 23--32. ISSN 0007-389X.

LANG, Š., VÍTEK, T., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., BRABEC, T., PFAU, R., MAREŠ, J., 2010: The Danish model trout farm Pravíkov (ČR); A first year and a plans for future. [online]. 2010. URL: <http://www.rybarstvi.eu/dok%20rybari/stepan.pdf>.

MAREŠ, J., KOPP, R., BRABEC, T., 2011: Nové metody v chovu ryb. In Intenzivní metody chovu ryb a ochrany kvality vod. 1. vyd. Třeboň: Rybářství Třeboň Hld.a.s., 2011, s. 5-13

NUSL, P., PFAU, R., 2010: Intenzivní chov pstruha duhového v recirkulačním systému. In Intenzita chovu ryb a ekologické aspekty v rybářství. Vodňany: Střední rybářská škola a Vyšší odborná škola vodního hospodářství a ekologie, 2010, s. 35-38. ISBN 978-80-87096-10-9.

VÍTEK, T., MAREŠ, J. 2009: Flow velocity conditions in the trout farm based on recirculation system of danish technology. IN KOPP, R. "60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně". 1. Vyd. Brno: MZLU Brno, s. 179-180. ISBN 978-80-7375-358-0

VÍTEK, T., KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J. 2011. Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu. Mendelova univerzita v Brně, ISBN 978-80-7375-571-3.

**Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I.
Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním
systému Dánského typu.**

(ověřená technologie)

Lang, Š., Kopp, R., Brabec, T., Vitek, T., Mareš, J.

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 61300, Brno

Tisk: Ediční středisko Mendelovy univerzity v Brně

Vydání: první, 2011, dotisk (2013)

Mendelova univerzita v Brně

ISBN 978-80-7375-597-3

Tabulka 4: Denní dávka mikromletého vápence v kg v závislosti na KNK přítoku a jeho intenzitě k dosažení alkality 2,0 mmol.l⁻¹.

| kg vápence za den | | KNK [mmol/l] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| | | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,1 | 1,2 | 1,3 | 1,4 | 1,5 | 1,6 | 1,7 | 1,8 | 1,9 |
| Přítok [l/s] | 1 | 17,3 | 16,4 | 15,6 | 14,7 | 13,8 | 13,0 | 12,1 | 11,2 | 10,4 | 9,5 | 8,6 | 7,8 | 6,9 | 6,0 | 5,2 | 4,3 | 3,5 | 2,6 | 1,7 | 0,9 |
| | 2 | 34,6 | 32,8 | 31,1 | 29,4 | 27,6 | 25,9 | 24,2 | 22,5 | 20,7 | 19,0 | 17,3 | 15,6 | 13,8 | 12,1 | 10,4 | 8,6 | 6,9 | 5,2 | 3,5 | 1,7 |
| | 3 | 51,8 | 49,2 | 46,7 | 44,1 | 41,5 | 38,9 | 36,3 | 33,7 | 31,1 | 28,5 | 25,9 | 23,3 | 20,7 | 18,1 | 15,6 | 13,0 | 10,4 | 7,8 | 5,2 | 2,6 |
| | 4 | 69,1 | 65,7 | 62,2 | 58,8 | 55,3 | 51,8 | 48,4 | 44,9 | 41,5 | 38,0 | 34,6 | 31,1 | 27,6 | 24,2 | 20,7 | 17,3 | 13,8 | 10,4 | 6,9 | 3,5 |
| | 5 | 86,4 | 82,1 | 77,8 | 73,4 | 69,1 | 64,8 | 60,5 | 56,2 | 51,8 | 47,5 | 43,2 | 38,9 | 34,6 | 30,2 | 25,9 | 21,6 | 17,3 | 13,0 | 8,6 | 4,3 |
| | 6 | 103,7 | 98,5 | 93,3 | 88,1 | 82,9 | 77,8 | 72,6 | 67,4 | 62,2 | 57,0 | 51,8 | 46,7 | 41,5 | 36,3 | 31,1 | 25,9 | 20,7 | 15,6 | 10,4 | 5,2 |
| | 7 | 121,0 | 114,9 | 108,9 | 102,8 | 96,8 | 90,7 | 84,7 | 78,6 | 72,6 | 66,5 | 60,5 | 54,4 | 48,4 | 42,3 | 36,3 | 30,2 | 24,2 | 18,1 | 12,1 | 6,0 |
| | 8 | 138,2 | 131,3 | 124,4 | 117,5 | 110,6 | 103,7 | 96,8 | 89,9 | 82,9 | 76,0 | 69,1 | 62,2 | 55,3 | 48,4 | 41,5 | 34,6 | 27,6 | 20,7 | 13,8 | 6,9 |
| | 9 | 155,5 | 147,7 | 140,0 | 132,2 | 124,4 | 116,6 | 108,9 | 101,1 | 93,3 | 85,5 | 77,8 | 70,0 | 62,2 | 54,4 | 46,7 | 38,9 | 31,1 | 23,3 | 15,6 | 7,8 |
| | 10 | 172,8 | 164,2 | 155,5 | 146,9 | 138,2 | 129,6 | 121,0 | 112,3 | 103,7 | 95,0 | 86,4 | 77,8 | 69,1 | 60,5 | 51,8 | 43,2 | 34,6 | 25,9 | 17,3 | 8,6 |
| | 11 | 190,1 | 180,6 | 171,1 | 161,6 | 152,1 | 142,6 | 133,1 | 123,6 | 114,0 | 104,5 | 95,0 | 85,5 | 76,0 | 66,5 | 57,0 | 47,5 | 38,0 | 28,5 | 19,0 | 9,5 |
| | 12 | 207,4 | 197,0 | 186,6 | 176,3 | 165,9 | 155,5 | 145,2 | 134,8 | 124,4 | 114,0 | 103,7 | 93,3 | 82,9 | 72,6 | 62,2 | 51,8 | 41,5 | 31,1 | 20,7 | 10,4 |
| | 13 | 224,6 | 213,4 | 202,2 | 190,9 | 179,7 | 168,5 | 157,2 | 146,0 | 134,8 | 123,6 | 112,3 | 101,1 | 89,9 | 78,6 | 67,4 | 56,2 | 44,9 | 33,7 | 22,5 | 11,2 |
| | 14 | 241,9 | 229,8 | 217,7 | 205,6 | 193,5 | 181,4 | 169,3 | 157,2 | 145,2 | 133,1 | 121,0 | 108,9 | 96,8 | 84,7 | 72,6 | 60,5 | 48,4 | 36,3 | 24,2 | 12,1 |
| | 15 | 259,2 | 246,2 | 233,3 | 220,3 | 207,4 | 194,4 | 181,4 | 168,5 | 155,5 | 142,6 | 129,6 | 116,6 | 103,7 | 90,7 | 77,8 | 64,8 | 51,8 | 38,9 | 25,9 | 13,0 |
| | 16 | 276,5 | 262,7 | 248,8 | 235,0 | 221,2 | 207,4 | 193,5 | 179,7 | 165,9 | 152,1 | 138,2 | 124,4 | 110,6 | 96,8 | 82,9 | 69,1 | 55,3 | 41,5 | 27,6 | 13,8 |
| | 17 | 293,8 | 279,1 | 264,4 | 249,7 | 235,0 | 220,3 | 205,6 | 190,9 | 176,3 | 161,6 | 146,9 | 132,2 | 117,5 | 102,8 | 88,1 | 73,4 | 58,8 | 44,1 | 29,4 | 14,7 |
| | 18 | 311,0 | 295,5 | 279,9 | 264,4 | 248,8 | 233,3 | 217,7 | 202,2 | 186,6 | 171,1 | 155,5 | 140,0 | 124,4 | 108,9 | 93,3 | 77,8 | 62,2 | 46,7 | 31,1 | 15,6 |
| | 19 | 328,3 | 311,9 | 295,5 | 279,1 | 262,7 | 246,2 | 229,8 | 213,4 | 197,0 | 180,6 | 164,2 | 147,7 | 131,3 | 114,9 | 98,5 | 82,1 | 65,7 | 49,2 | 32,8 | 16,4 |
| | 20 | 345,6 | 328,3 | 311,0 | 293,8 | 276,5 | 259,2 | 241,9 | 224,6 | 207,4 | 190,1 | 172,8 | 155,5 | 138,2 | 121,0 | 103,7 | 86,4 | 69,1 | 51,8 | 34,6 | 17,3 |

Tabulka 5: Denní dávka NaCl v kg v závislosti na obsahu chloridů v přítoku a jeho intenzitě k dosažení hodnoty 15 mg.l⁻¹ chloridů.

| | | Potřeba NaCl [kg/den] | | | | | | | |
|--|----|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Vodivost přítoku [mS/m] | | 10,0 | 10,6 | 11,3 | 11,9 | 12,5 | 13,2 | 13,8 | 14,5 |
| Obsah Cl ⁻ v přítoku [mg/l] | | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| Přítok v l/s | 1 | 2,14 | 1,85 | 1,57 | 1,28 | 1,00 | 0,71 | 0,43 | 0,14 |
| | 2 | 4,28 | 3,71 | 3,14 | 2,57 | 2,00 | 1,43 | 0,86 | 0,29 |
| | 3 | 6,42 | 5,56 | 4,70 | 3,85 | 2,99 | 2,14 | 1,28 | 0,43 |
| | 4 | 8,55 | 7,41 | 6,27 | 5,13 | 3,99 | 2,85 | 1,71 | 0,57 |
| | 5 | 10,69 | 9,27 | 7,84 | 6,42 | 4,99 | 3,56 | 2,14 | 0,71 |
| | 6 | 12,83 | 11,12 | 9,41 | 7,70 | 5,99 | 4,28 | 2,57 | 0,86 |
| | 7 | 14,97 | 12,97 | 10,98 | 8,98 | 6,99 | 4,99 | 2,99 | 1,00 |
| | 8 | 17,11 | 14,83 | 12,55 | 10,26 | 7,98 | 5,70 | 3,42 | 1,14 |
| | 9 | 19,25 | 16,68 | 14,11 | 11,55 | 8,98 | 6,42 | 3,85 | 1,28 |
| | 10 | 21,38 | 18,53 | 15,68 | 12,83 | 9,98 | 7,13 | 4,28 | 1,43 |
| | 11 | 23,52 | 20,39 | 17,25 | 14,11 | 10,98 | 7,84 | 4,70 | 1,57 |
| | 12 | 25,66 | 22,24 | 18,82 | 15,40 | 11,98 | 8,55 | 5,13 | 1,71 |
| | 13 | 27,80 | 24,09 | 20,39 | 16,68 | 12,97 | 9,27 | 5,56 | 1,85 |
| | 14 | 29,94 | 25,95 | 21,95 | 17,96 | 13,97 | 9,98 | 5,99 | 2,00 |
| | 15 | 32,08 | 27,80 | 23,52 | 19,25 | 14,97 | 10,69 | 6,42 | 2,14 |
| | 16 | 34,21 | 29,65 | 25,09 | 20,53 | 15,97 | 11,40 | 6,84 | 2,28 |
| | 17 | 36,35 | 31,51 | 26,66 | 21,81 | 16,96 | 12,12 | 7,27 | 2,42 |
| | 18 | 38,49 | 33,36 | 28,23 | 23,09 | 17,96 | 12,83 | 7,70 | 2,57 |
| | 19 | 40,63 | 35,21 | 29,80 | 24,38 | 18,96 | 13,54 | 8,13 | 2,71 |
| | 20 | 42,77 | 37,07 | 31,36 | 25,66 | 19,96 | 14,26 | 8,55 | 2,85 |

2. Vliv částečné bioaugmentace na prvotní záběh biofiltru intenzivního recirkulačního systému Dánského typu pro chov lososovitých ryb

Vliv částečné bioaugmentace na prvotní záběh biofiltru intenzivního recirkulačního systému Dánského typu pro chov lososovitých ryb.

Influence of partial bioaugmentation on first starting proces of Danish type water recirculating system for intensive production of salmonids.

Lang, Š., Kopp, R., Mareš, J., Melichar, M.

Abstract: The test was established to evaluate if partial bioaugmentation will be able to increase the speed of establishing the stable nitrification process at low temperatures (10 – 14 °C) with lowering costs of the operation by reducing the amount of inoculum to 50 %. We found that partial inoculation was able to establish the steady nitrification in biological filter in 17 days at the average temperature of 12 °C and the efficiency of the nitrification was not influenced heavily even by further rapid addition of fish to the system.

Úvod

Nitrifikace, chemolitoautotrofní oxidace amoniaku na dusičnany bakteriemi přes dusitany, je základem moderních recirkulačních systémů pro chov lososovitých ryb využívaných v současné době v české republice. Tyto systémy, na rozdíl od čistíren odpadních vod pracují při relativně nízkých koncentracích amoniaku rozpuštěného ve vodě (>1,0 mg/l). Nízká koncentrace amoniaku ve vodě, respektive poměr amoniaku k rozpuštěným organickým látkám, způsobuje časté problémy při záběhu biologického filtru. Pomalu rostoucí nitrifikační bakterie z počátku těžko konkurují rychle rostoucím bakteriím heterotrofním, které se živí organickými látkami. Je všeobecně známo, že přírůstek nitrifikačních bakterií nedosahuje ani násobku jejich počtu za den pro bakterie nitritační respektive nitratační. Heterotrofní bakterie při stejných podmínkách násobí svůj počet více než 4 krát za den. Záběh biologického filtru z tohoto důvodu bývá

značně časově náročný proces (Wuertz et al., 2004) obzvláště při přísunu organických látek do filtru. To je u recirkulačních systémů, které spotřebovávají velké množství elektrické energie nehledě na intenzitu jejich využití nežádoucí. Jedním z řešení se zdá být urychlení záběhu biofiltru, vytvoření žádoucí mikroflóry, pomocí inokulace (bioaugmentace). Bioaugmentace může být provedena několika způsoby. Nejčastější jsou přenesení části již zaběhnutých filtračních elementů, použití aktivovaného kalu z funkční čistírny odpadních vod, nebo použití bakteriálních preparátů určených k urychlení záběhu biofiltru. U prvních dvou způsobů hrozí kontaminace čistého, nového, nebo desinfikovaného, systému nemocemi, nebo parazity. Poslední způsob je z pohledu udržení systému prostého nemocí a parazitů nejvhodnější. Na základě předchozího pokusu (data nepublikována) jsme proto zvolili metodu bioaugmentace systému bakteriálním konsorciem kultivovaným v živném roztoku. Zároveň, jelikož je biologický filtr několikanásobně předimenzován a do systému byly po jeho záběhu ryby nasazovány postupně, byla inokulována jen část filtru s předpokladem budoucího samovolného rozšíření mikroflóry nitrifikačních bakterií do zbývajících částí systému. Jako výživa pro nitrifikační bakterie byl zvolen chlorid amonný, protože dodal bakteriím amonné ionty a zároveň v systému navýšil obsah chloridů. Zvýšení obsahu chloridů je žádoucí pro navýšení chloridového čísla pro případ možné budoucí kumulace dusitanového dusíku během zabíhání druhé části biofiltru.

Materiál a metodika

Bakteriální konsorcium použité pro tento pokus bylo kultivováno 24 h v kultivačním médiu při teplotě 35 °C v laboratoři Mendelovy univerzity v Brně na Oddělení rybářství a hydrobiologie. Poté byly nádoby (barely) s bakteriální kulturou převezeny k nově napuštěnému recirkulačnímu systému (1h 20min). Bakterie byly neprodleně po příjezdu k systému použity k inokulaci. Inokulovány byly čtyři z osmi oddělení ponořeného filtru a filtr plovoucí.

Pokus byl z provozních důvodů rozdělen do dvou fází. V první fázi pokusu (19.5. – 29.5. dopoledne) bylo v systému zamezeno cirkulaci vody a byl přidán chlorid amonný pro dosažení obsahu amonných iontů na úrovni 1,5 -2,5mg/l v jednotlivých odděleních ponořeného filtru a ve filtru plovoucím. Během této fáze byl dvakrát přidán chlorid amonný. Filtry ponořené i filtr plovoucí byly neustále prozdušňovány.

Ve druhé fázi (29.5. večer – 4.6.) byla spuštěna recirkulace vody 30.5. dopoledne byly do systému nasazeny první ryby. Po tomto období (5.6. – 25.6.) bylo sledování

chemických parametrů diskontinuální (provozní) pomocí provozních kolorimetrických metod (Fčelova bednička). Na počátku této fáze začaly ryby vykazovat příznaky intoxikace amoniakem, proto bylo pH sníženo přidáním 36% kyseliny chlorovodíkové.

V průběhu obou částí pokusu byly vzorky vody pro chemickou analýzu obsahu dusíkatých látek (N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ a N-NH₄⁺) měřeno semi-mikro metodami se spektrofotometrickou koncovkou dle APHA 1998, Horáková a kol. 2007, Pitter 1999; 2009), chloridů byly odebírány vždy v 8:00 a 17:00. Ve stejnou dobu byly měřeny i fyzikálně chemické parametry vody (nasycení vody kyslíkem – WTW Oxi 340i (sonda DurOx – WTW GmbH, Německo, pH – kolorimetricky se směsným činidlem, porovnáním s barevnou škálou). Teplota vody byla zaznamenávána každou hodinu přístrojem Minikin (EMS Brno).

Výsledky

Nasycení vody kyslíkem v biofiltrech neklesalo pod 85%. To při teplotách od 9,7 do 15,7°C zajistilo dostatek kyslíku pro růst a metabolismus aerobní populace nitrifikačních bakterií. Reakce vody dosahovala v první fázi hodnot pH (6,7) 7,3 – 7,5. Na konci druhé fáze až 8,0. Toto vysoké pH na počátku třetí fáze převažovalo. Po nasazení téměř 1,1t ryb (2.6. - 3.6.), než se systém zvýšenému přísunu amoniaku adaptoval a klesla hodnota pH vody, byly na rybách pozorovány příznaky a laboratorně byla ověřena jejich intoxikace amoniakem. Po postupném snížení pH vody v systému přidavkem 36% HCl, z 8,0 na 7,0 během 24 hodin, příznaky otravy ryb amoniakem odezněly. Po čtyřdenním snižování pH pomocí HCl se intenzita funkce biologického filtru zvýšila natolik, že byl systém schopen potřebnou hodnotu pH, s přispěním metabolismu ryb, nadále udržovat samostatně.

Obsah amonných iontů v první fázi pokusu klesal pomalu a byl dvakrát navýšen přidavkem chloridu amonného (graf 1). Hlavním důvodem prvního přidavku chloridu amonného byla nutnost odčerpání části vody ze systému a tím naředění živného roztoku amoniaku v systému. Ve druhé fázi klesal obsah amonných iontů v systému plynule. Po nasazení prvních ryb (30. - 31.5. a 2. - 3.6.) došlo pouze k nepatrnému výkyvu tohoto trendu (graf 2). Ve třetí fázi, po nasazení téměř 1,1t ryb během dvou dnů (konec fáze 2) a počátku jejich intenzivního krmení a zapojení dalších pěti doposud nepoužívaných odchovných žlabů do recirkulace, došlo ke zvýšení obsahu toxického amoniaku v systému (zvýšení pH) a intoxikaci ryb amoniakem (viz výše). Průběh obsahu chemických látek v této době nebyl sledován z důvodu nedostupnosti chemikálií až do

9.7., kdy byl obsah amonných iontů již minimální (0,3 mg/l), dále klesal na nedetekovatelnou hladinu a reakce vody byla ustálena na 7,0.

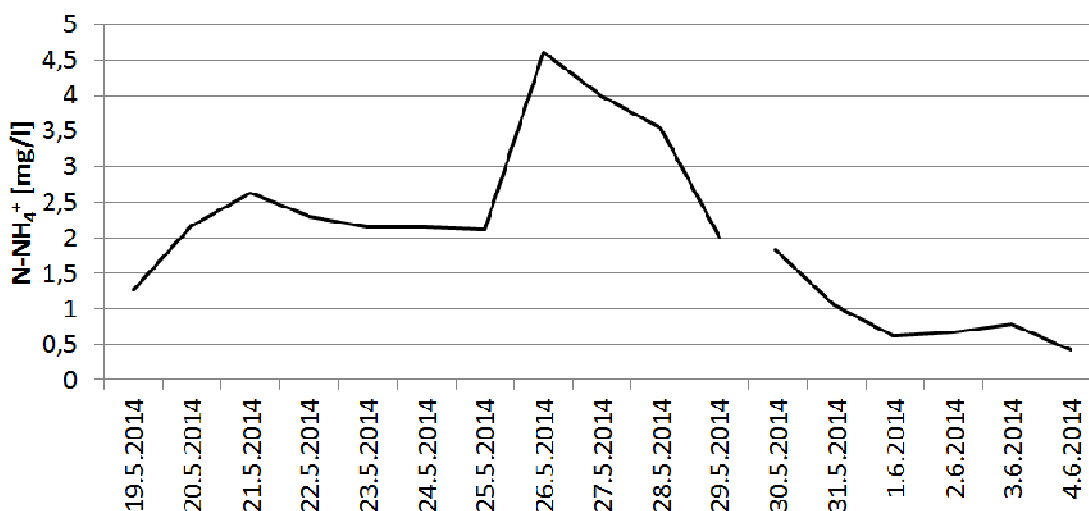
Obsah dusitanového dusíku v první fázi pokusu pomalu vzrůstal. Křivka nárůstu jeho obsahu byla narušena 25.5. Ten den byla ze systému odčerpána část vody a systém byl opětovně dopuštěn. Tím byla koncentrace dusitanového dusíku naředěna (graf 2) a míra jejich kumulace v systému byla omezena. Další propad jejich koncentrace nastal po druhé přidání chloridu amonného do systému 25.5. odpoledne. Na počátku druhé fáze pokusu obsah dusitanového dusíku v systému klesal a dále došlo ke zvýšení jejich obsahu po nasazení ryb (3.6.). Další krátkodobá zvýšení obsahu dusitanového dusíku v systému bylo možné předpokládat po každém přísazení ryb do systému, čemuž napovídají i hodnoty naměřené po 9.7. kolem 0,4 mg/l které dále klesaly.

Obsah dusičnanového dusíku v inokulovaných částech systému postupně narůstal z počáteční hodnoty 10,0 na 13,1 mg/l 24.5. Poté, po naředění vody v systému klesl na 8,6 mg/l a až do počátku druhé fáze pokusu (spuštění recirkulace) plynule narůstal. Ve druhé fázi obsah dusičnanového dusíku v systému kolísal v rozsahu 8,2 – 10,7. To bylo zřejmě způsobeno kolísáním intenzity fotosyntézy vláknitých řas, jejichž biomasa v neaktivní části systému (bez výměny a pohybu vody) intenzivně narostla. Řasy narostlé v systému zřejmě způsobily i nárůst pH v nesledovaném období 5.6. – 9.7. a intoxikaci ryb amoniakem.

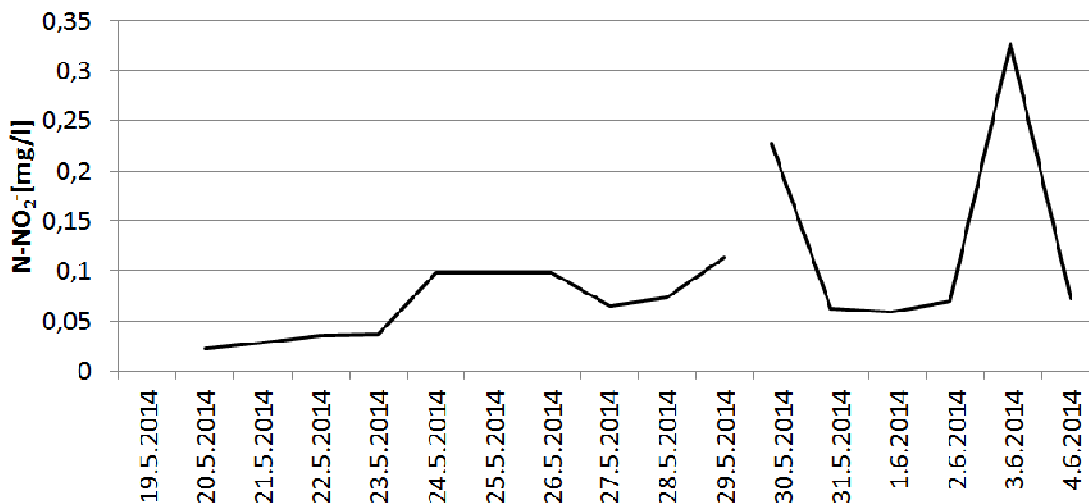
Diskuze

Průběh záběhu biologického filtru během našeho testu, z hlediska změn obsahů jednotlivých dusíkatých látek, více či méně kopíruje křivky grafů získané při sledování záběhu biofiltrů mnohými autory a obecně zveřejňované v dostupné literatuře (Cresson et al., 2006; Tsuneda et al., 2003; Van der Star et al., 2007). Většina výše zmíněných pokusů byla však prováděna při dvojnásobě vyšších teplotách a i přes to byl námi dosažený záběhu biologického filtru o třetinu kratší (17 dní), než u výše zmíněných autorů. Průměrná délka záběhu biologického filtru bez bioaugmentace při teplotách kolem 20 °C je udávána kolem 35 dnů, s bioaugmentací kolem 23 dnů.

Graf 1: Vývoj obsahu amonných iontů v první a druhé fázi pokusu (průměrné hodnoty ze všech odběrných míst)



Graf 2: Vývoj obsahu dusitanového dusíku v první a druhé fázi pokusu (průměrné hodnoty ze všech odběrných míst).



Závěr

Během pokusu jsme dosáhli enormně dobrých výsledků při prvotním záběhu biologického filtru a to s relativně minimálními náklady. Původní kalkulace pro bioaugmentaci (komerční dodávka mikroorganismů) počítala s cenou převyšující 30 000 Kč a zaběhnutím celého biologického filtru do 10 dnů. Pomocí částečné bioaugmentace jsme byli schopni tuto cenu snížit na méně než 10 000 Kč při

prodloužení záběhu o 7 dní. Zároveň jsme ušetřili během této doby, díky vypnutému cirkulačnímu dmychadlu (11kW) ušetřili cca 20 000 Kč na elektrické energii. Díky postupnému nasazování ryb mě poté filtr dostatečnou kapacitu a dostatek času na záběh druhé poloviny biologického filtru a tím nedošlo k počáteční kumulaci amonných iontů v systému. Jediným nedostatkem tohoto řešení byl nárůst podstatné biomasy vláknitých řas v neaktivní části systému, které po spuštění cirkulace vody systémem svým metabolismem zvýšili pH vody na úroveň 8 a to způsobilo mírnou intoxikaci ryb amoniakem i při nízkém obsahu amonných iontů ve vodě. Tento problém, je ale možno řešit zastíněním nepoužívaných žlabů, nebo zastřešením celého systému, které by zároveň prodloužilo produkční sezonu celého systému a jeho efektivitu vzhledem k vynaloženým nákladům na elektrickou energii.

Poděkování

Tento článek vznikl za podpory projektu NAZV *Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb* (QI91C001) a za přispění výjimečné pohostinnosti firmy KINSKÝ Žďár a.s. a jejích zaměstnanců.

Literatura

APHA, AWWA, and WEF, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater 21st ed. American Public Health Association, Washington D.C.

Horáková, M. a kol., (2007): Analytika vody. VŠCHT Praha, 335 p.

Pitter, P., 1999. Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

Pitter, P., 2009, Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT Praha, 592 s.

Tsuneda, S., Nagano, T., Hoshino, T., Ejiri, Y., Noda, N., Hirata, A., 2003. Characterisation of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. *Water Res.* 37, 4965–4973.

Van der Star, W., Abma, W., Blommers, D., Mulder, J., Tokutomi, T., Strous, M., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M., 2007. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale Anammox reactor in Rotterdam. *Water Res.* 41, 4149–4163.

Cresson, R., Carrère, H., Delgenès, J.P., Bernet, N., 2006. Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor – impact of nutrient complementation. *Biochem. Eng. J.* 30, 55–62.

Wuertz, S., Okabe, S., Hausner, M., 2004. Microbial communities and their interactions in biofilm systems: an overview. *Water Sci. Technol.* 49 (11–12), 327–336.

Prof. Dr. Ing. Jan Mareš, doc. Ing. Radovan Kopp Ph.D., Ing. Štěpán Lang, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika. E-mail: mares@mendelu.cz; fcela@seznam.cz; stepanlang@gmail.com.

Ing. Martin Melichar, KINSKÝ Žďár, a.s. Zámek 1/1 59101 Žďár nad Sázavou, Česká republika. E-mail: m.melichar@kinsky-zdar.cz.

3. Diurnální změny vybraných hydrochemických parametrů na recirkulačním systému dánského typu při různé teplotě vody.

Diurnální změny vybraných hydrochemických parametrů na recirkulačním systému dánského typu při různé teplotě vody.

LANG, Š., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., VÍTEK, T., MAREŠ, J.

Klíčová slova: lososovití, diurnální, recirkulace, biofiltr, amoniakální dusík, kyslík, pH.

Diurnal changes of some hydrochemical parameters at different temperatures using Danish model of recirculation system for trout farm.

LANG, Š., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., VÍTEK, T., MAREŠ, J.

Two twenty-four hour observations were performed using a Danish model recirculation system having an overall volume of 1000 m³, containing of 12 concrete rearing units and two biofilters for water treatment, first with floating elements and second with sinking elements. The first observation was carried out on 11th August 2009 at 18.3 ± 0.4 °C and the second one on 25th November 2009 at 3.9 ± 0.2 °C. The aim of the observations was to focus on dissolved oxygen level, pH value and content of ammonia nitrogen in water to verify the function of the biofilter for trout rearing. During the second the same hydrochemical parameters were used to compare a potential impact of different stocking densities of rainbow trout.

Within 24 hours differences concerning hydrochemical parameters at 18.9 °C were always bigger than at 3.9 °C. At 18.3 °C higher oxygen consumption has been concerned within five hours after feeding as well as higher production of ammonia nitrogen. The pH value was always a bit lower in the outflow compared to inflow of the rearing units. At 3.9 °C the difference in ammonia nitrogen was lower between inflow and outflow of the rearing units without big changes over the night.

The influence of stocking densities was observed between the between rearing units containing 12,000 and 6,000 individuals, respectively. Fish stock of 12,000 individuals consumed more oxygen, produced more ammonia nitrogen and caused lower pH value in the outflow.

The observations were supported by of project NAZV No. QI91C001 “Optimization of rearing conditions for salmonids in conditions of Czech republic with use of Danish technology with focus on quality of produced fish” and Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Keywords: salmonids, diurnal, recirculation, water conditioning, ammonia nitrogen, oxygen, pH.

Úvod

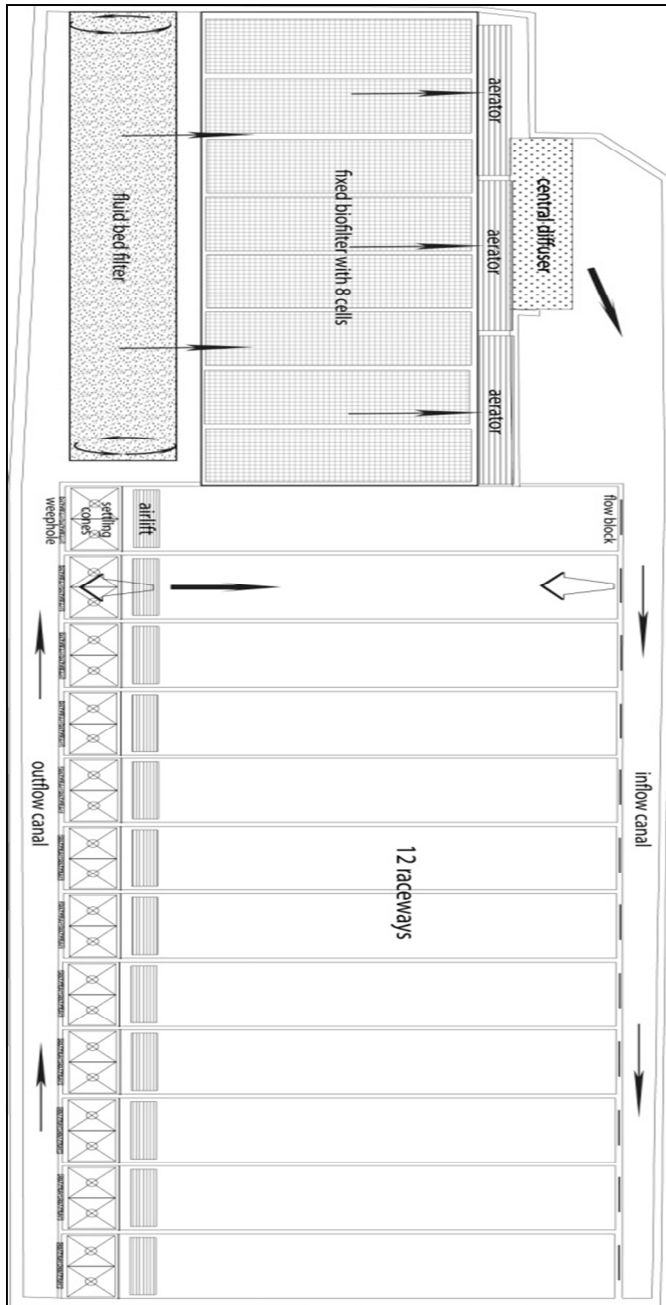
Se stále se zvyšujícími ekologickými nároky na vypouštění odpadních látek do životního prostředí a prohlubujícím se nedostatkem kvalitní vody je chov ryb v recirkulačních systémech celosvětově každoročně se rozvíjející odvětví akvakultury. Recirkulační systémy mohou snížit potřebu vody pro odchov ryb až 100x (MacMillan, 1992; Blancheton et al., 2007).

Produkce ryb z recirkulačních zařízení se každoročně zvyšuje.

Recirkulační zařízení jsou však budována na různých místech v různé zeměpisné šířce i délce a nadmořské výšce, což má za následek různý průběh počasí během roku i teplot během roku a dne. Zařízení, na kterém jsme prováděli sledování je majetkem firmy Biofish s.r.o. a nachází se poblíž Kamenice nad Lipou (GPS 49°19'9.04"N; 15°5'39.97"E). Je to celo betonové zařízení o celkovém objemu 1000 m³ sestávající se z části odchovné, 12 odchovných žlabů (11x2x2m - 1,7m vody) a části pro úpravu a čerpání vody, která je rozdělena na jednokomorový biofiltr s plovoucí náplní a osmi komorový biofiltr s ponořenou náplní (rozdělení na komory je z důvodu odkalování

biofiltru) mezi nimiž je sedimentační zóna. Za biofiltrem následuje úsek vybavený difusory (0,8m pod hladinou), kde je voda okysličená a částečně zbavena oxidu uhličitého. Následuje 2,5 m hluboký airlift čerpající vodu do postupně se zužujícího kanálu přivádějícího vodu k odchovným žlabům. Přítok do jednotlivých odchovných žlabů lze regulovat šoupětem. Voda do odchovného žlabu přitéká ve spodní části žlabu. Před odtokem z každého žlabu je umístěn difusor zajišťující vyublávání CO₂, aeraci a zpětné proudění vody. Za difusorem je mříž zabraňující rybám v úniku do odtokového kanálu. Za mříží jsou umístěny sedimentační žlaby. Voda odtéká v horní části odchovného žlabu tak, že nad sedimentačními kužely je rychlost proudu jenom velmi malá (1,2 - 2,4 cm.s⁻¹) a nerozpuštěné exkrementy mohou sedimentovat. Sediment je dvakrát denně odpouštěn do odpadní jímky. První čtyřadvacetihodinové sledování bylo provedeno 11. 8. 2009 a druhé 25. 11. 2009 při teplotách $18,3 \pm 0,4$ °C respektive $3,9 \pm 0,2$ °C.

Obrázek 1. Schéma odchovného zařízení.



Souhrn

Na recirkulačním objektu dánského typu o celkovém objemu 1000 m³ s biofiltrem, sestávajícího z 12 odchovných žlabů a jednokomorového biofiltru s plovoucí a osmi komorového biofiltru s ponořenou náplní, byla provedena dvě čtyřadvacetihodinová sledování fyzikálně-chemických parametrů vody při různých teplotách prostředí. První pozorování bylo uskutečněno 11. 8. 2009 při $18,3 \pm 0,4$ °C a druhé 25. 11. 2009 při $3,9 \pm 0,2$ °C. Sledovány byly tyto hlavní parametry: nasycení vody kyslíkem, pH a obsah amoniakálního dusíku (NH₄⁺), se zaměřením na ověření funkce biofiltru v závislosti na krmení ryb. U druhého sledování i na ovlivnění daných parametrů hustotou obsádky v jednotlivých žlabech.

V průběhu 24 hodin jsme v teplejším období pozorovali výraznější výkyvy u všech daných parametrů. A to výraznější spotřebu kyslíku rybami, hlavně v průběhu pěti hodin po nakrmení ryb, a výrazný nárůst obsahu amoniakálního dusíku po nakrmení ryb. Hodnota pH byla po průtoku vody odchovnou částí systému vždy mírně nižší než na přítoku na žlaby. V chladnějším období byl menší rozdíl v obsahu amoniakálního dusíku mezi přítokem na žlaby a odtokem na biofiltr bez výrazných změn v průběhu noci.

Vliv hustoty obsádky se projevil pouze mezi žlaby s obsádkou 6 tis. a 12 tis. ks ryb. Vyšší obsádka spotřebovala více kyslíku, vyprodukovala více amoniakálního dusíku a výrazněji snížila hodnotu pH na odtoku ze žlabu.

Sledování bylo zpracováno za podpory projektu NAZV (QI91C001) „Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb“ a Výzkumného záměru (MSM6215648905) „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu.“

Literární zdroje:

Blancheton, J. P., Piedrahita, R., Eding, E. H., Roque d'orbcastel, E., Lemarie', G., Bergheim, A., Fivelstad, S., 2007. Intensi.cation of landbased aquaculture production in single pass and reuse systems. In: Aquaculture Engineering and Environment, (Chapter 2).

MacMillan, R., 1992. Economic implications of water quality management for a commercial trout farm. In: Blake, J., Donald, J., Magette, W. (Eds.), National Livestock, Poultry, and Aquaculture Waste Management. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, pp. 185–190.