

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Fakulta rybářství a ochrany vod**

Ústav akvakultury

Diplomová práce:

**Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční  
účinnost nauplií *Artemia salina* pro raná  
vývojová stádia ryb**

**Autor diplomové práce: Bc. Petr Hulan**

**Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Zdeněk Adámek, CSc.**

**Konzultant: Ing. Martin Bláha Ph.D.**

**Studijní program a obor: N4103 Zootechnika, Rybářství**

**Ročník: 2n**

České Budějovice

Duben 2012

#### PROHLÁŠENÍ:

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

Duben 2012

.....  
Bc. Petr Hulan

## Poděkování

Na tomto místě děkuji především vedoucímu mé diplomové práce doc. RNDr Zdeňkovi Adámkovi, CSc za spolupráci, trpělivost, ochotu a odbornou pomoc při zpracování této práce. Dále mé poděkování patří mému konzultantovi Ing. Martinu Bláhovi Ph.D., a všem ostatním spolupracovníkům. Děkuji i členům laboratoří Odd. rybářství a hydrobiologie, Ústavu výživy zvířat a pícninářství a Ústavu chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně, kteří se podíleli na zpracování vzorků.

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

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petr HULAN**  
Osobní číslo: **V10N006P**  
Studijní program: **N4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro raná vývojová stádia ryb**  
Zadávající katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Nutriční účinnost hluboce zamrazeného a opakovaně rozmrazeného zooplanktonu je často předmětem pochybností, avšak konkrétní údaje o změnách ve složení živin a nutriční účinnosti takto znehodnoceného krmiva jsou dosud nedostatečné. Cílem práce bude vyhodnotit nutriční účinnost opakovaně rozmrazených nauplií *Artemia salina* a změny jejich chemického složení na základě růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančika rýžovištního *Oryzias latipes*. Jako kontrola budou sloužit živé nauplie zkrmené rybám od věku 1 týdne, rozkrmeným přirozenou potravou. Před zahájením pokusu a po jeho skončení bude stanoveno složení krmiv s ohledem na obsah živin a vybraných aminokyselin a mastných kyselin.

Rozsah grafických prací: **podle potřeby s ohledem na výsledky**

Rozsah pracovní zprávy: **30 stran**

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Adámek Z., Helešic J., Maršálek B., Rulík M., 2008: Aplikovaná hydrobiologie, VÚRH JU Vodňany, 305 s.

Halver J., 1994: Fish nutrition. Blackwell Science, London, 417 s.

Adámek Z., 1999: Biologie halančička *Oryzias latipes* a metodika jeho chovu pro toxikologické testy. In: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí, Soláň: 77-82.

Vítek, J., Kadlec, J., 2001 Halančiči. Svět křídel, Cheb, 303 s.

Vědoucí diplomové práce:

**doc. RNDr. Zdeněk Adámek, CSc.**

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant diplomové práce:

**Ing. Martin Bláha, Ph.D.**

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **30. listopadu 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2012**

u. 2.   
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A UCHRANY VOD  
Zábrní 728/II  
389 25 Vodňany (2)

  
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. ledna 2011

Annotation:

**The influence of repeated defrosting on nutritional efficiency of *Artemia salina* nauplii for early developmental stages of fish**

This work deals with the nutritional efficiency of deep frozen and repeatedly defrosted zooplankton. Nutritional efficiency of deep frozen natural food devalued by thawing is often questioned, but specific data on changes in nutrient composition and nutrient efficiency is lacking.

This thesis aims to evaluate the nutritional efficiency of repeatedly thawed *Artemia salina* nauplii and changes of their chemical composition on growth, survival and deformities occurrence during the early ontogenic development of Japanese medaka, *Oryzias latipes*.

## OBSAH

ÚVOD .....	9
1. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	10
1. 1 Modelový organismus – <i>Oryzias latipes</i> , japonská medaka .....	10
1. 1. 1 Potrava .....	10
1. 1. 2 Pohlavní dimorfismus a rozmnožování .....	11
1. 1. 3 Krmení halančika rýžovištního v umělém chovu .....	12
1. 2 Požadavky ryb na živiny .....	12
1. 2. 1 Lipidy .....	13
1. 2. 2 Proteiny a aminokyseliny .....	17
1. 2. 3 Sacharidy.....	22
1. 2. 4 Popeloviny (obsah minerálních látek).....	25
1. 3 Nutriční hodnota potravních organismů.....	26
1. 4 Žábronožka solná <i>Artemia salina</i> .....	29
1. 4. 1 Popis.....	29
1. 4. 2 Formy artemie používané v akvakultuře.....	30
1. 4. 3 Skladování.....	31
1. 4. 4 Líhnutí vajíček .....	31
1. 4. 5 Biochemické složení artemie (Browne a kol., 1991).....	32
1. 5 Vliv zmrazení na hodnotu krmiva.....	33
2. MATERIÁL A METODIKA .....	34
2. 1 Generační ryby a metodika jejich chovu.....	34
2. 1. 1 Výtěr generačních ryb a odběr jiker.....	35
2. 1. 2 Odlov embrya, jeho rozkrm a nasazení do pokusu .....	35
2. 2 Příprava živé potravy .....	36
2. 2. 1 Příprava krmiva.....	36

2. 3 Průběh pokusu.....	37
2. 4 Metodika měření .....	37
2. 5 Příprava krmiva k chemickým rozborům.....	38
2. 6 Analýzy vzorků artemií .....	39
2. 6. 1 Metodika analýz .....	39
2.7 Statistické hodnocení dat.....	40
3. VÝSLEDKY .....	41
3. 1 Růst a přežití .....	41
3. 2 Složení krmiva – artemie .....	43
3. 2. 1 Obsah aminokyselin.....	43
3. 2. 2 Výsledky analýz obsahu mastných kyselin.....	43
4. DISKUSE.....	46
5. ZÁVĚR .....	50
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	52
Seznam zkratk: .....	56
Seznam obrázků, tabulek a grafů .....	57
Souhrn .....	58
Přílohy: .....	60



# ÚVOD

Při odchovu ryb nejen v chovech produkčních, ale i v hobby chovech je nejdůležitější co nejrychleji překonat období od přechodu na vnější potravu až po pohlavní dospělost. Proto je vhodné použít potravu co nejvíce blízkou přírodní, a to nejen pro dobré přežití a růst chovaných ryb, ale hlavně pro její nutriční hodnoty, které bývají pro ryby příznivé a vyvážené. Často bývá nemožné, nebo příliš nákladné ji získat, a proto je nutné ji nahrazovat buď plnohodnotnými krmnými směsmi, nebo různými metodami konzervace. Jako nejjednodušší je považováno zamrazení živé potravy. Takto konzervované krmivo lze skladovat po poměrně dlouhou dobu, avšak není jasně definováno, zda je tato konzervace pro krmivo šetrná, či nikoliv.

Nutriční hodnoty krmiv výrazně ovlivňují růst i přežití ryb. Pro mnoho druhů ryb jsou známy poměrně přesné požadavky na jednotlivé komponenty krmiva a jejich vzájemný poměr, avšak není zcela jasné, jak tyto komponenty a jejich poměr ovlivňuje teplota při skladování.

Cílem diplomové práce je najít odpověď na otázku, zda je zamrazená artemie, žábronožka solná (*Artemia salina*) plnohodnotnou náhražkou artemie živé, jak se na její nutriční účinnosti projevuje rozmrazení a opakované zamrazení a to na základě růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančíkova rýžovištního (*Oryzias latipes*), používaného hojně v různých experimentech, díky své nenáročnosti na odchov a rozmnožování.

Jako kontrolní dieta byla zvolena živá, čerstvě nalíhlá artemie. Jako sledované skupiny byly zvoleny nauplie živých, trvale zamrazených na  $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ , rozmrazených na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazených a rozmrazených na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazených artemií.

# 1. LITERÁRNÍ PŘEHLED

Literární přehled vychází z mé bakalářské práce s názvem Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro halančika rýžovištního *Oryzias latipes* (Hulan, 2010)

## 1. 1 Modelový organismus – *Oryzias latipes*, japonská medaka

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

Medaka může být chována pro akvarijní účely, avšak její největší využití je bezpochyby v oblasti laboratorní a experimentální práce. Zvláště v posledních několika letech je díky zvyšujícím se tlakům na uplatnění zásad animal welfare značný nárůst jejího využití v embryotoxikologii (Adámek, 1999).

Dle nejstaršího zařazení, právě dle Rosena z roku 1964, spadala podčeleď Oryziatinae do čeledi Cyprinodontidae a řádu Atheriniformes. Avšak podle nového zařazení dle Escheyera 1998 – 2000 nepatří do řádu Cyprinodontiformes, ale do nového řádu Beloniformes, čeledi Adrianichthyidae a podčeledi Oryziinae (Vítek a Kadlec, 2001).

Rod *Oryzias* je rozšířen v Asii, od Indie a Indonésie přes Filipíny až po Japonsko a Čínu (Vítek a Kadlec, 2001). Samostatný druh *Oryzias latipes* žije v Japonsku, Koreji a Číně (Temminck a Schlegel, 1846). V Japonsku se ale nevyskytuje na ostrově Hokkaidó. Jeho výskyt je taktéž na Taiwanu (Naruse, 1996).

Pro chov jsou medaky nenáročné a značně odolné ryby již v raných vývojových stádiích. Přežívají i za velmi nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku a v širokém teplotním rozsahu.

### 1. 1. 1 Potrava

Medaka je omnivor. Za nejdůležitější krmivo jsou považováni vodní červi (*Tubifex*, *Limnodrilus*) a bílí červi (*Enchytraeus*). Za ideální potravu pro adultní ryby a larvy jsou

považování vodní korýši (*Entomostraca*) a nauplie žábřonožky solné (*Artemia salina*). Z vodních korýšů se ukázala být nejlepší *Moina macrocopa*. I přes nevhodnou velikost dospělců *Moiny* se doporučuje přidat je do odchovné nádrže s plůdkem pro jejich partenogenetickou produkci drobných larev, které jsou plůdkem snadno přijímány.

Pro nejranější plůdek je nejvhodnější krmit větší protozoa, zvláště pak *Paramecium caudatum*. U běžně chovaných ryb včetně medaky má krmení živé potraviny prospěšné účinky. Nicméně medaka je schopna přijímat a vhodně využívat i sušenou potravu, ale pouze za předpokladu, že je v nádrži dostatek jednobuněčných zelených řas (Yamamoto, 1975).

### **1. 1. 2 Pohlavní dimorfismus a rozmnožování**

Samci jsou poněkud větší. Tento rozdíl však není signifikantní ( $P > 0,05$ ), (Adámek, 1999). Kromě velikostních rozdílů je sekundární pohlavní diference patrná i morfologicky. Řitní a hřbetní ploutev je u samců rozřepnější na obou ploutvích jsou mezi posledními dvěma paprsky patrné zářezy, které slouží ke vzájemnému přichycování ryb při tření (Kirchen a West, 1969).

Výtěr může probíhat ve společné nádrži, nebo v malých vytíracích nádržkách o malém objemu okolo 1 až 2 litrů v poměru 1 : 1-2 ve prospěch samic.

Pro medaku je typické, že neodkládají celou snůšku jiker najednou, ale kladou postupně několik jiker denně. Třetí období je proto relativně dlouhé a u některých druhů může trvat prakticky po celou dobu dospělosti (Vítek a Kadlec, 2001). Samice mohou produkovat během jednotlivých reprodukčních cyklů až 3 000 i více jiker (Egami, 1959). Obvyklé množství jiker od jedné samice je 10 – 30 jiker (1 – 70) o průměru 1 – 1,5 mm v jedné dávce (Kirchen a West, 1969). Rugh (1962) došel k mírně odlišným výsledkům: samička klade 1 – 80 jiker denně (průměr 20 – 30), tj. za celé třetí období naklade okolo 500 až 800 jiker. Samičí plodnost je přímo úměrná velikosti těla. U samců tento vztah neplatí.

Za podmínek podobných přirozeným je diurnální fotoperiodicita nejdůležitějším řídícím faktorem výtěru. Je uváděna jako důležitější, než je teplota (Adámek, 1999). Podle Kirchena a Westa (1969) lze při teplotách 25 – 28 °C dosáhnout kontinuální produkce jiker.

### **1. 1. 3 Krmení halančika rýžovištního v umělém chovu**

Typické krmení pro medaky je následující:

1/ Artemia

2/ Umělé suché krmivo

3/ trepka *Paramecium*

Artemie je nejčastější živé krmivo a je nejvhodnější pro všechny věkové kategorie ryb: larvální, juvenilní a dospělé. Umělé krmivo je také vhodné pro všechny věkové kategorie, zatímco *Paramecium* je vhodné jen pro larvy.

Medaka ve stáří 3-dph (dny po kulení) může být krmena artemií a množství artemie může být denně zvyšováno. Je třeba sledovat krmení larev artemií, aby se zabránilo překrmení a potvrdila se spotřeba na základě oranžového zbarvení střeva kvůli spotřebě artemie. Předadultní a adultní ryby mohou být také krmeny artemií. Nevýhodou je, že artemie rychle hyne ve sladké vodě, především bez aerace a po zastavení proudění vody. Nauplie artemie jsou nejvhodnější ke krmení hned po vylíhnutí, protože nutriční hodnota se snižuje s růstem. Artemie jako živé krmení je používána už od stáří jednoho dne a to pro své vysoké nutriční hodnoty, které podporují růst larev medaky i tření dospělých ryb.

Ve většině chovů se používá medaka pro výzkumné účely, krmení je prováděno třikrát nebo čtyřikrát denně. Dospělci mohou být krmeni dvakrát denně, avšak nedostatečné krmení bude znamenat méně vytřených jiker (Masato a kol. 2009)

### **1. 2 Požadavky ryb na živiny**

Stejně jako všichni ostatní živočichové i ryby ke svému životu potřebují pestrou výživu obsahující bílkoviny, cukry, tuky, vitamíny a minerální látky. Hlavní složkou přirozené potravy je voda. Krmení jednostrannou potravou, která neobsahuje všechny potřebné látky, může mít za následek zdravotní potíže ryb. Naopak dodržení správné diety může být prevence před různými nemocemi a infekcemi.

Způsob, jakým je potrava přijímána, a složení potravy má nemalý vliv na celý živý organismus. Umožňuje vznik nejen různých druhů, ale i adaptací a přizpůsobení v rámci druhu - u ryb především v postavení úst, ve tvaru a ozubení dutiny ústní, popřípadě obklopení úst hmatovými vousky (Halver a Hardy, 2003).

## 1. 2. 1 Lipidy

Pro poměrně vysoký podíl lipidů v těle ryb je jejich zastoupení v potravě velmi důležité. Většina lipidů je u akvarijních ryb získána z planktonu, který obsahuje převážně nenasycené mastné kyseliny (Halver a Hardy, 2003).

Tuky jako jeden z nejvýznamnějších zdrojů živin jsou pro ryby nepostradatelné. Je velice důležité podávat je v krmivu se správnou skladbou, která je pro ryby specifická. Nedodržení tohoto požadavku může vést, a ve většině případů i vede, ke zdravotním problémům ryb.

Tuky jsou z výživářského hlediska za pokojové teploty tuhé i tekuté esterové sloučeniny mastných kyselin a glycerolu. Jsou však i tuky neobsahující glycerol (glykolipidy, vosky, steroidy, cholesterol, žlučové kyseliny) (Novák, 2010).

Lipidy jsou velmi složitou skupinou živin skládající se z tuků, mastných kyselin, vosků, lipoproteinů a dalších látek. V organismu mají různou funkci. Podle jejich struktury je možné je rozdělit na lipidy jednoduché (mastné kyseliny - MK a volný cholesterol) a lipidy složené (esterifikovaný cholesterol, triacylglyceroly a fosfolipidy) (Halver a Hardy, 2003).

Mastné kyseliny tvoří různě dlouhý uhlíkový řetězec. Obsahuje-li dvojně vazby, jedná se o nenasycené mastné kyseliny (UFA – Unsaturated Fatty Acids), neobsahuje-li je, jde o mastné kyseliny nasycené (SFA – Saturated Fatty Acids) (Novák, 2010).

Glycerol tvoří estery se třemi rozdílnými, nebo i shodnými MK. Druh MK má zásadní vliv na vlastnosti tuku. Například dvojně vazby v uhlíkovém řetězci MK mají vliv na snížení bodu tání. Proto kapalné tuky (oleje) obsahují vysoký podíl nenasycených MK. Bod tání významně ovlivňuje i délka řetězce. MK s krátkým řetězcem mají nižší bod tání než MK s dlouhým řetězcem (Steffens, 1989).

Rybí tuk obsahuje MK s délkou uhlíkového řetězce od 14 do 24 C.

Podle počtu dvojných vazeb se mastné kyseliny dělí na monoenoové (MUFA – Mono Unsaturated Fatty Acids) s jednou dvojnou vazbou (např. k. olejová 18 : 1 n-9), polyenoové (PUFA – Poly Unsaturated Fatty Acids) s více dvojnými vazbami (k. linolová 18 : 2 n-6) a vysoce nenasycené (HUFA - Highly Unsaturated Fatty Acids) se třemi a více dvojnými vazbami (k.  $\alpha$ -linolenová 18:3n-3).

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

Důležité je, že kyselina n-6 může být v metabolismu nahrazována n-3 mastnou kyselinou. Proto se ve stravě doporučuje poměr n-3 : n-6 nejméně 1:4 (Novák, 2010).

Rybí tuk je charakterizován vysokým množstvím nenasycených MK. Jeho složení může být velmi variabilní v jeho podrobných aspektech. Charakteristické je patrné množství polynenasycených mastných kyselin (PUFA) skupiny n-3, které mají výrazně vyšší početnost než n-6. Množství n-6 je vyšší u sladkovodních ryb než u mořských (n-6 / n-3 je u sladkovodních okolo 0,37, zatímco u mořských pouze 0,16) (Steffens, 1989).

### 1. 2. 1. 1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny n-3 a n-6, patří mezi nepostradatelné. Důležité, často se vyskytující MK jsou:

laurová	12 : 0	
myristová	14 : 0	
palmitová	16 : 0	
stearová	18 : 0	
olejová	18 : 0 n 9	
linolová	18 : 2 n 9	
linolenová	18 : 3 n 3	
arachidonová	20 : 4 n 6;	20 : 5 n 3
Dokosapentaenová	22 : 5 n 3;	22 : 6 n 3

(Steffens, 1989).

Jako nejkratší a nejjednodušší MK je **kyselina máselná**. Je lehce stravitelná nejen pro ryby, avšak pro ekonomickou nevýhodnost se v praxi příliš neosvědčila.

MK s délkou řetězce 6-10 uhlíků, patřící mezi oleje nazývané MCT (Medium Chain Triacylglycerols), jsou poměrně velmi lehce stravitelné. A to hlavně pro svou důležitou vlastnost, že je organismus může po vstřebání okamžitě energeticky využívat a nemusí je nejprve ukládat do zásobních tukových buněk. Mohou částečně ve výživě nahradit sacharidy. Nejdůležitější složkou MCT olejů jsou kyseliny **kapronová, kaprylová a kaprinová**. Krom výše uvedeného také podporují rozvoj příznivé střevní mikroflóry. MCT olej v krmivech ryb se hlavně z cenových důvodů nevyužívá.

Další významné mastné kyseliny s delším řetězcem jsou **laurová, myristová a palmitová**. Tyto tři mastné kyseliny jsou v krmivech považovány za nežádoucí, protože podporují nejen tvorbu krevních lipidů, ale i vznik tukové degenerace jater. Přesto však bývají v jednotlivých tucích zastoupeny v poměrně vysokém obsahu.

**Kyselina stearová** byla dříve posuzovaná jako negativní složka potravy pro podobné zdravotní účinky jako předchozí MK. Bylo však zjištěno, že je toto tvrzení mylné, proto již není její zastoupení ve výživě negativně posuzováno.

MK s obsahem uhlíků 20 až 32 molekul mohou být sice v lipidech obsaženy i ve vyšších množstvích, ale nejsou již významné z hlediska běžné výživy (Novák, 2010).

Za jednu z nejdůležitějších MK je považována n-3, **kyselina linolenová** a její deriváty, mezi které patří **kyselina alfa-linolenová** se třemi dvojnými vazbami. Její důležitost spočívá v tom, že si z ní rybí organismus dokáže vytvořit jiné potřebné látky, jakými jsou eikosapentaenové (EPA), dokosapentaenová (DPA) a dokosahexaenová (DHA).

V řadě n-6 MK je považována za základní **kyselina linolová** obsahující dvě dvojně vazby. V těle ryb je metabolizována na kyselinu arachidonovou (CLA, Conjugated Linolenic Acid) a dokosapentaenovou (DPA).

**Kyselina olejová** obsahující jednu dvojnou vazbu je považována za nejtypičtější n-9 mastnou kyselinou. V potravě je zcela běžnou složkou a její vhodný obsah příznivě ovlivňuje skladbu krevních lipidů.

Nejvýznamnějšími zdroji mastných kyselin v Evropě jsou oleje (Novák, 2010).

Ryby, jako všichni ostatní studovaní obratlovci, potřebují pro svůj normální růst a vývoj včetně reprodukce tři dlouhé řetězce polynenasycených mastných kyselin (PUFA): kyselina dokosahexaenová (DHA, 22 : 6 n-3), eikosapentaenová kyselina

(EPA, 20 : 5 n-3) a kyselina arachidonová (AA, 20 : 4 n-6) (Sargent a kol., 1993, 1995, 1997 a, b). Biochemické, buněčné a fyziologické funkce těchto tří PUFA jsou prakticky stejné u ryb i u jiných obratlovců a dělí se podle významu pro organismus do dvou kategorií: (a) všeobecné role při udržování strukturální a funkční celistvosti buněčných membrán, (b) více specifické úlohy jako předchůdce skupiny vysoce biologicky aktivních hormonů paracrine, známé kolektivně jako eikosanoidy (účinné látky), prostaglandiny, tromboxany aj., podílející se v organismu na řadě klíčových biologických funkcí (dýchání, činnost srdce, imunoaktivita aj.).

U ryb, stejně jako u suchozemských savců, jsou DHA, EPA a AA spojené s udržováním buněčné membránové struktury a její funkce. Nicméně v rybách jsou DHA a EPA, ale nikoli AA, hlavní součástí PUFA buněčných membrán. V důsledku toho mají tkáně ryb obecně mnohem vyšší koncentrace EPA a DHA než AA a ryby mají adekvátně vysoké požadavky na stravu pro n-3 PUFA.

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

### **1. 2. 1. 2 Potřeba esenciálních MK**

Jako ostatní zvířata, ryby jsou schopné syntetizovat palmitovou kyselinu z acetátu za pomoci syntetázy MK, acetát je hlavně derivátem z glukózy. Intenzivní studie s pstruhem duhovým ukázaly, že linolenová kyselina (18:3 n-3) je velice důležitá pro udržení růstu u tohoto druhu a je pro tyto účely a pro zlepšení využití krmiva vhodnější než linolová (18:2 n-9). Proto se můžeme domnívat, že pro pstruha duhového je linolenová kyselina zřejmě nepostradatelná, stejně jako linolová u savců. Kromě zakrnělého růstu a neadekvátního příjmu krmiva, nedostatek linolenové kyseliny v krmivu způsobuje ploutevní poškození, speciálně ocasní ploutve, světle zbarvený tuk v játrech a akutní myokarditidu. Konečně typickým příznakem je speciální forma šokového symptomu, který po excitaci (stres) vede k nekoordinovaným pohybům při plavání a nakonec ke ztrátě pohyblivosti. Počátek tohoto chování se vyskytuje od čtyř



týdnů do tří měsíců od začátku nedostatečné dávky kyseliny liniolenové v krmivu. Následkem pak mohou být těžké ztráty v chovu (Steffens, 1989).

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

Obsah Linolenové kyseliny požadované pstruhem duhovým je okolo 1 % krmiva, nebo 2,7 % dietního obsahu energie.

Pro pstruha duhového nelze považovat glyceroly za efektivní zdroj energie. Glycerol je metabolizován na glukózu. Pstruh, jenž obdržel krmivo obsahující 6 až 12 % volného glycerolu, má vyšší množství krevního cukru, který může být připsán hyperglykémii, a stagnuje v příjmu potravy. Krom toho 1 % volného glycerolu je ekvivalentní k 10 % tuku (Steffens, 1989).

### **1. 2. 1. 3 Doporučený obsah tuků v krmivu ryb**

Při krmení plůdku i dospělých ryb, pokud se přidávají velmi kvalitní tuky (řepkový, rybí), je možný i vyšší podíl tuků - až 20 %. V případě vysokého obsahu lecitinu je možný i vyšší podíl.

U sladkovodních a mořských všežravých ryb stačí obsah n-3 mastných kyselin 1 %. U mořských masožravých ryb by měla být 2 % mastných kyselin EPA, DHA a DPA, zejména při odchovu jejich larev (plůdku). Vyšší požadavek na EPA a DHA je při nižší teplotě vody. Použití rybího tuku jako jedné z tukových složek krmiva s vysokým obsahem vhodných mastných kyselin je doporučeno u mořských i sladkovodních ryb, zejména jejich plůdku.

Doporučený obsah tuku v sušině krmiva **pro masožravé ryby** by měl být u plůdku nejméně 16 %. Během růstu se postupně snižuje až na nejméně 10 % u generačních ryb.

Doporučený obsah tuku v sušině krmiva **pro všežravé ryby** by měl být u plůdku nejméně 8 %. Během růstu se postupně snižuje až na nejméně 5 % (Novák, 2010).

### **1. 2. 2 Proteiny a aminokyseliny**

Bílkoviny (proteiny) jsou považovány za jednu z nejvýznamnějších složek krmiva. V rybím organismu jsou zastoupeny téměř všude, ve svalech, kostech, ale i

v jednotlivých orgánech. Mohou taktéž sloužit jako energetický zdroj. Proto patří mezi nenahraditelné stavební živiny.

Bílkoviny jsou z chemického hlediska polymery aminokyselin (AK). Na ty má každý organismus specifické nároky. Například všechny ryby mají shodné zastoupení aminokyselin v přepočtu na čistou bílkovinu. Odlišné a typické složení mají také bílkoviny hovězího masa, sóji, pšenice atd. (Novák, 2010).

Esenciální složka aminokyselin je karboxy skupina (-COOH) a amino skupina (-NH<sub>2</sub>) na alfa atomu uhlíku. Aminokyseliny jsou propojeny peptidovou vazbou do formy proteinu. Protein obsahuje uhlík (50 – 55 %), vodík (6,5 - 7,5 %), dusík (15,5 – 18 %, předpokládaná hodnota je 16 %), kyslík (21,5 -25,5 %) a obvykle síru (0,5 – 2 %).

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

Existuje 18 aminokyselin, které mohou být nalezeny ve většině rostlinných a živočišných proteinů.

Aminokyseliny lze rozdělit do dvou nutričních skupin, esenciální a neesenciální. Všechna monogastrocká zvířata, včetně ryb, vyžadují 10 esenciálních aminokyselin; arginin, histidin, izoleucin, leucin, lyzin, methionin, phenilalanin, tryptofan a valin, ty mohou být nahrazeny jejich odpovídající  $\alpha$ -hydroxi nebo  $\alpha$ -keto analogem. (Lovell 1998). Mezi nejvýznamější AK patří lysin, methionin a threonin. Cystein a tyrosin jsou AK asistující. Histidin a arginin patří do skupiny AK polo-esenciálních (Novák 2010)

#### Zastoupení aminokyselin:

Zastoupení a obsah aminokyselin v krmivu by mělo co nejvíce odpovídat zastoupení aminokyselin v těle ryb. Čím více je krmivo svým obsahem aminokyselin podobnější rybám, tím je vhodnější a stravitelnější. Obsah aminokyselin v rybách (v g vztaženo na 16 g dusíku, tedy 100 g proteinu) je alanin 6 g, arginin 5,7 g, kyselina asparagová 10,4

g, kyselina glutamová 1,2 g, glycin 4,8 g, histidin 3,5 g isoleucin 4,8 g, leucin 7,7 g, lysin 9,2 g, methionin 2,9 g phenylalanin 3,9 g, prolin 3,7 g, serin 4,3 g, threonin 4,6 g, tryptofan 0,6 g, tyosin 3,7 g, valin 6,1 g.

esenciální (nepostradatelné). Musí být dodány, organismus je nedokáže vyrobit z jiného zdroje.

poloesenciální (jsou nepostradatelné u rychle rostoucího organismu), někdy se jim také říká pomalé. Organismus je sice částečně vyrábí, ale pomalu, což nestačí požadavkům při rychlém růstu mláďat.

neesenciální (postradatelné). Organismus je dokáže vyrobit z jiných zdrojů nebo esenciálních aminokyselin.

asistující. Tento výraz znamená, že v metabolismu „asistují“ určitým esenciálním aminokyselinám. Nejsou to esenciální aminokyseliny a pokud nejsou obsaženy v krmivu, lze je částečně nahradit. Přesněji řečeno - pro tvorbu asistujících aminokyselin organismus potřebuje použít esenciální aminokyseliny. Pokud jsou asistující aminokyseliny ve stravě, nepotřebuje organismus tolik esenciálních. Typické jsou dvojice aromatických aminokyselin, esenciální fenylalanin + neesenciální tyrosin, a sírné aminokyseliny esenciální metionin + neesenciální cystein. Při výpočtech receptur nebo aminokyselinového skóre se sčítají.

V tělech živých organismů je známo přes 100 aminokyselin, ovšem pouze 20 je jich považováno za základní stavební aminokyseliny bílkovin. Ne všechny bílkoviny musí obsahovat všech 20 aminokyselin. V některých mohou být jiné, tzv. specifické, aminokyseliny. Mezi ně patří i hydroxyprolin a hydroxylysin v kolagenu. Obecně však bílkoviny obsahují všechny aminokyseliny, jen v různých poměrech. To určuje jejich stravitelnost (Novák, 2010).

### **1. 2. 3. 1 Aminokyseliny**

Pro lososa chinook je následujících deset AA nepostradatelných: arginin, histidin, izoleucin, leucin, lysin, metionin, fenylalanin, treonin, tryptofan a valin. U ostatních druhů ryb bylo prokázáno, že vyžadují stejných deset AA.

### Arginin

Požadavek argininu v krmivu je pro pstruha kolem 6 % proteinu v krmivu a pro ostatní druhy okolo 4 až 5 %. Odhadovaný požadavek množství argininu se zdá být o něco nižší než získaný studiem růstu ryb.

### Histidin

Požadavek histidinu v krmivu ryb je od 1,5 do 2,5 %.

### Izoleucin

Požadavek je okolo 2,2 až 3 % proteinu, ale pro japonské úhoře a milkfish jsou požadavky vyšší. U ryb kmených dietou s nedostatkem izoleucinu byla pozorována vysoká mortalita.

### Leucin

Požadované množství leucinu je přibližně od 3,3 do 3,9 % proteinu v krmivu, avšak vyšší hodnoty nad 5 % jsou pro japonské úhoře a milkfish.

### Valin

Obsah valinu podle studovaných druhů by měl být okolo 2,5 až 4 % proteinu v krmivu.

Zdá se, že existuje vzájemná interakce mezi izoleucinem-leucinem-valinem a mezi různými druhy ryb.

### Lysin

Lysin bývá obecně první limitující AA v krmivech používaných pro krmení teplovodních ryb a možná i u ostatních ryb.

Požadavek lysinu je pro většinu ryb v rozmezí od 4 do 5 %. Obsah 5,7 % pro kapra obecného a 6,2 % pro caltu (*Catla catla*), může indikovat, že kaprovité ryby mají vyšší požadavek na lysin než ostatní ryby. Obsah 6,1 % pro pstruha duhového vybočuje z řady, avšak další dva autoři hlásí mnohem nižší požadavek.

### Metionin

Nejvíce ryb má požadavky na optimální koncentraci metioninu okolo 2 až 3 % proteinu, avšak catla, losos chinook a mořský cejn mají vyšší požadavky na metionin.

### Cystein

Při obsahu metioninu v krmivu, avšak při nedostatku cysteinu, je část metioninu využita na syntézu proteinů a část je přeměněna na cystein. Tím je zajištěna jeho maximální potřeba pro růst. Když je však v krmivu nedostatek metioninu a nadbytek cysteinu, lze cystein využít pouze na syntézu proteinů, nikoliv na přeměnu na metionin.

### Fenylalanin

Fenylalanin je považován za postradatelný, protože může být syntetizovaný rybou z nepostradatelné aromatické AK. Požadované množství fenylalaninu nebo také celkového obsahu aromatických AK je v rozmezí 5 – 6 %, s výjimkou nižšího obsahu u pstruha duhového a vyššího obsahu u kapra obecného.

### Tyrozín

Protože ryba má metabolickou potřebu fenylalaninu a tyrozinu, ale jen určitá část fenylalaninu může být přeměněna na tyrozin a ještě plnit zvířecí potřebu fenylalaninu, je důležité určit, kolik potřebných celkových aromatických AA může být přeměněno na tyrozin. Růstové studie ukazují, že tyrozin může nahradit nebo ušetřit kolem 60 % fenylalaninu potřebného pro kapra obecného, 50 % u kanálového sumečka 48 % u pstruha duhového a 46 % u milkfish (*Chanos chanos*).

### Treonin

Studie uvádí optimální potřebu treoninu v rozmezí od 2 od 5 % proteinu.

### Tryptofan

Optimální hodnoty tryptofanu v proteinu jsou okolo 0,5 až 1 % (Halver a kol., 1957)

Skolióza a lordóza se vyskytla u lososa sockeye , ale ne u lososa chinook krmeného krmivem s deficitem tryptofanu. Skolióza a lordóza byla ze stejného důvodu pozorována i u pstruha duhového a lososa chum (Halver a Shanks, 1960)

## **1. 2. 3. 2 Zastoupení bílkovin v krmivu**

Doporučený obsah bílkovin v sušině krmiva **pro masožravé ryby** je u plůdku minimálně 52 %, během růstu se postupně snižuje až na nejméně 47 % u generačních ryb.

Doporučený obsah bílkovin v sušině krmiva **pro všežravé ryby** je u plůdku nejméně 42

% a během růstu se postupně snižuje až na minimálně 37 %. Uvedené hodnoty platí pro sladkovodní i mořské ryby (Novák, 2010).

### **Nedostatečné množství bílkovin a nevyváženost aminokyselin v potravě**

Nevyváženost aminokyselin a nadměrné, nebo nedostatečné množství bílkoviny v potravě je poměrně častou chybou v uzavřených chovech, kde jsou ryby krmeny jedním druhem krmiva (Lovell, 1998). Při nedostatečném množství bílkovin klesá množství krevního albuminu (pohotovému zdroji bílkovin), rozvíjí se chudokrevnost, snižuje se imunita organismu, zhoršuje se činnost mozku. Organismus přesouvá bílkoviny mezi jednotlivými orgány, to znamená do míst s jejich větší potřebou. U mladých jedinců dochází k poruchám jak osvalení, tak i tvorby kostry, zejména obratlů (kost je z poloviny tvořena bílkovinou), případně celkovým poruchám vývoje (Novák, 2008). Tzv. disbalance (nevyváženost) aminokyselin znamená, že obsah jedné esenciální aminokyseliny určuje celkové množství vlastních bílkovin, které mohou být vybudovány. Ostatní aminokyseliny přijaté ve výživě jsou potom nadbytečné a musí být vyloučeny. Při dlouhotrvající disbalanci aminokyselin dochází ke zdravotním problémům, které bývají dost často přisuzovány jiným negativním vlivům. Praktické výsledky ukazují, že pokud jsou dodány bílkoviny s vyváženým poměrem aminokyselin, může (někdy dokonce musí) být dávka bílkovin snížena až na polovinu (Lovell, 1998).

### **1. 2. 3 Sacharidy**

Sacharidy nejsou pro ryby tak důležitou složkou potravy, jako je tomu u teplokrevných živočichů. Přesto musí být v krmivu obsaženy jako látky, které mohou výrazně pomoci při zlepšování zdravotního stavu ryb.

Sacharidy jsou polyhydroxy - aldehydy a ketony s minimálně třemi atomy uhlíku, a některé jejich sloučeniny (Novák, 2010). Jsou to organické sloučeniny obsahující ve své struktuře uhlík, kyslík a vodík.

Nejvyšší obsah sacharidů je v krmivech rostlinného původu. Jsou pro ryby zdrojem energie, ale mohou se ve formě glykogenu ukládat v játrech nebo ve svalovině, nebo se mohou metabolizovat na tuk. Krom glykogenu se v krvi ryb vyskytují sacharidy v pohotovější formě energie, a to ve formě glukózy.

Podle počtu „cukerných jednotek“ se sacharidy z hlediska přísně teoretického dělí na polysacharidy, di- a oligosacharidy a monosacharidy (Steffens, 1989).

## **Monosacharidy**

V této skupině se nachází hexosy (glukosa, galaktosa, fruktosa) a pentosy s výjimkou glukosy jako volného sacharidu nacházejícího se jen v rostlinách. Jsou základní stavební části di-, oligo-, a polysacharidů (Steffens, 1989).

V krmivech ryb se nejčastěji objevují následující monosacharidy:

Glukóza - označovaná jako dextróza nebo hroznový cukr.

Fruktóza - označovaná jako levulóza nebo cukr ovocný.

Galaktóza - ve formě monosacharidu se běžně nevyskytuje, je ovšem složka mléčného cukru, galaktolipidů, mnoha rostlinných polysacharidů.

Manóza - výskyt v rostlinných krmivech pouze v malém množství (Novák, 2010).

## **Disacharidy a oligosacharidy**

Obsahují dvě až deset jednotek), disacharidy jsou složené ze dvou monosacharidů, oligosacharidy ze tří až šesti (Steffens, 1989).

Sacharóza - řepný cukr složený z  $\alpha$ -glukózy a  $\beta$ - fruktózy (Steffens, 1989). Má sladkou chuť a organismus ji štěpí na základní sacharidy glukózu a fruktózu (Novák, 2010)

Laktóza - mléčný cukr se skládá z  $\alpha$ - glukózy a  $\beta$ - galaktózy (Steffens, 1989). Důležitá pro vstřebávání minerálních látek. Štěpí ji pouze enzym laktáza vylučovaný pouze u savců. Dávky laktózy v krmivech živočichů, kteří ji nepřijímají pravidelně a dlouhodobě, by neměly překročit 4 % v trávenině, aby se zamezilo trávicím potížím (Novák, 2010)

Maltóza - sladový cukr složený ze dvou  $\alpha$ -glukóz (Steffens, 1989). Typicky se tvoří v klíčícím obilí, kde vzniká ze zásobního škrobu (Novák, 2010).

Celobióza - je složená ze dvou  $\beta$ - glukóz (Steffens, 1989).

## **Polysacharydy**

Polysacharidy obsahují 11 a více jednotek a jsou to sloučeniny složené z většího počtu (stovky a tisíce) monosacharidů (Steffens, 1989).

Za nejvýznamnější polysacharidy pro ryby lze považovat vlákninu a škrob. Ty tvoří důležitou balastní část naplňující zažívací trakt. Vlákna je pro ryby nestravitelná a její

vyšší množství, u lososovitých ryb nad 2,5 %, u kapra pak nad 8 %, snižuje stravitelnost ostatních živin (Mareš, 2000).

Polysacharidy lze rozdělit podle:

- a) podle počtu cukerných jednotek na:
  - **dextriny** (11 až 100 molekul monosacharidů neboli cukerných jednotek)
  - **škroby** (nad 100 molekul).
- b) podle výchozích sacharidů, ze kterých jsou tvořeny:
  - **glukany** (tvořeny molekulami glukózy). Dále se dělí na alfa-glukany, například glykogen a škrob, a beta-glukany, například celulóza nebo některé speciální beta-glukany s biologickou aktivitou, například na imunitu)
  - **fruktany** (tvořeny molekulami fruktózy)
  - **manany** (tvořeny molekulami manózy)
  - **galaktany** (tvořeny molekulami galaktózy)
  - **xylany** (tvořeny molekulami xylózy)

#### *Rostlinné škroby a živočišný glykogen*

Jsou zásobní látky složené z více než 100 cukerných jednotek monosacharidů, známé u obratlovců jako glykogen a u rostlin jako škrob.

*Glykogen*, živočišný polysacharid, složený z glukózových jednotek je obsažen v játrech a svalech. Svalový glykogen je spalován na energii - a to maximálně z jedné třetiny z postraních řetězců. Při narušení hlavního řetězce by došlo k úplné degradaci.

*Škroby rostlinné* jsou hlavní energetický zdroj v rostlinách, pro dravé ryby a zejména jejich plůdek jsou však téměř nestravitelné. V přírodní formě jsou těžko dostupné pro trávicí enzymy i jiných ryb.

*Vláknina* - neškrobové polysacharidy, celulóza, hemicelulóza, pektiny, lignin (není to sacharid, ale je považován za vlákninovou složku), rostlinné gemy, rostlinné slizy a mikrobiální polysacharidy. Do této skupiny jsou někdy zahrnuty i jiné nestravitelné sacharidy. Až na celulózu a lignin ve vodě bobtnají nebo se rozpouštějí. Některé jsou pro obratlovce dostupné pouze za pomoci střevní mikroflóry.

*Chitin* (polymer N-acetyl-D-glukosaminu) je složkou kutikuly u hmyzu a u korýšů, ale je obsažen i v houbách a kvasinkách. Pro ryby je stravitelný pomocí enzymu chitinázy.



*Konjugované sacharidy* (složené sacharidy) kromě cukrů jsou zde ještě navázané jiné složky, např. tuky, peptidy nebo bílkoviny. Typicky jsou zastoupené ve vazivové tkáni. Jako energetický zdroj jsou bezvýznamné (Novák, 2010).

#### **1. 2. 4. 1 Trávení sacharidů**

Stravitelnost sacharidů závisí na jejich struktuře a rybím druhu, protože různé rybí druhy mají různou aktivitu amylolytických enzymů. Lososovité ryby nemají v dostatečném množství obsaženu v trávicím traktu amylázu (tj. enzym štěpící škrob), proto je využití glycidů u těchto ryb omezené. Zaživací trakt kaprovitých ryb produkuje amylolytické enzymy (amyláza a maltáza), a ve srovnání s lososovitými rybami kaprovité ryby efektivněji využívají sacharidy v krmných směsích (sacharidové krmné směsi). U kapra mohou být sacharidy primárním zdrojem energie, využívá přes 70 % brutto energie obsažených v neupraveném škrobu (Mareš, 2000).

Obsah vlákniny v krmivu určuje využití živin. Vlákna je nejdůležitější z hlediska rychlosti průchodu stravy trávicí soustavou. Čím více hrubé vlákniny, tím rychlejší je peristaltika střev, ovšem rozpustná vlákna zpomaluje činnost trávicích enzymů, a tedy stravitelnost živin. Nadměrný obsah vlákniny v krmivu je nežádoucí a je největší brzdou vstřebávání živin a omezuje výkonnost trávicí soustavy (Novák, 2010).

#### **1. 2. 4 Popeloviny (obsah minerálních látek)**

Ryby jsou schopné do určité míry přijímat minerální látky přímo z vody a to i ve vodách s minimálním výskytem těchto látek. V akváriích je proto výměna vody důležitá i z tohoto hlediska (Halver a Hardy, 2003).

Minerální látky jsou naprosto nepostradatelné elementy ve výživě nejen ryb, ale i všech živočichů. Podílejí se nejen na výstavbě těla, ale i na jeho funkci. Minerály velmi často vystupují jako biokatalyzátory pro enzymy, hormony a proteiny. Minerály jsou velmi důležité také pro osmoregulaci ryb. Požadavky na minerální látky jsou velmi podobné jako u teplokrevných živočichů.

Do těla ryb jsou přijaty přes kůži a žaberní epitel, např. vápník a fosfor (nezbytné pro kostru) a kobalt, ovšem důležitý příjem je spolu s potravou. Absorbované množství je přímo závislé na koncentraci těchto látek ve vodě. Nedostatek se projevuje pouze u ryb v intenzivních chovech.

Obsah minerálů v krmivu by se měl řídit jejich obsahem v těle ryb, ten se ovšem mění podle obsahu ve vodě a v potravě stejně jako s velikostí ryby. Stabilní obsah minerálů u pstruha duhového je až po dosažení 2 – 10 g (asi 12 – 20 týdnů po zahájení krmení).

Nedostatek se projevuje zdravotními problémy. Naopak nadbytek bývá poměrně dobře vylučován močí, výkaly, slizem, přes žaberní aparát a kůží. Ovšem některé minerální látky patřící mezi stopové mohou být kumulovány a působit poruchy nebo vystupovat toxicky nejen v těle, ale i v potravním řetězci. Optimalizace se dnes provádí prostřednictvím minerálních doplňků často s jinými látkami.

Obecně je možné zařadit minerály do dvou skupin:

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

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

Fosfor je pro ryby nejdostupnější v anorganické formě monokalciumpfosfátu. Pro pstruha duhového je potřeba přibližně 0,7 až 0,8 % krmné dávky. Vyšší dávky jsou nevyužité a ve vodním prostředí podporují eutrofizaci. Stejně jako fosfor musí být i ostatní minerální látky podávány v biodostupné formě.

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

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

Sodík, draslík a chlór se podílejí na osmoregulaci.

Minerální látky jsou v organismu ukládány do zásoby. V době nedostatku jsou uvolňovány a dopravovány v organismu na místo potřeby (Steffens, 1989).

### **1. 3 Nutriční hodnota potravních organismů**

K vyjádření nutriční hodnoty potravy se využívá tzv. krmný koeficient (KK). Ten udává, kolik kg konkrétní potravní složky (krmiva) je třeba na 1 kg přírůstku hmotnosti

ryb. Tak např. KK činí v případě blešivců (*Gammaridae*) 3,9; larev pakomárů (*Chironomidae*) 4,4; perlooček 5,1; měkkýšů (Mollusca) 7 – 10. S těmito hodnotami koresponduje energetický obsah, který vyjádřený v kJ na gram sušiny.

Nutriční hodnota chlorely je dána obsahem cca 50 % proteinů, 35 % sacharidů (včetně vysokého obsahu těžce stravitelné celulózy) 5 % lipidů a 10 % minerálních látek v sušině. Perlooček *Daphnia magna* a larvy pakomárů *Chironomus plumosus* (tabulka 1), kteří patří k nejvýznamnějším přirozeným potravním organismům kapra. Z porovnání obsahu esenciálních aminokyselin v sušině *Chlorella* a *Daphnia magna* a nutričních požadavků kapra (tabulka 2) vyplývá, že dafnie jsou schopny téměř plně pokrýt jeho potřebu. Obsah proteinu u *Daphnia magna* činil 1,18 % čerstvé, respektive 39,24 % sušiny (Adámek, 2008).

Tyto hodnoty bílkovin zcela splňují nutriční požadavky jak plůdku kapra, tak jeho starších kategorií i jiných všežravých ryb. Obsah surového tuku a vlákniny v sušině byl 4,98, respektive 4,32 %, což je vhodné pro komerční chov kapra. Aminokyseliny methyonin a fenilalanin byly obsaženy v částečném nedostatku, zatímco ostatní esenciální aminokyseliny zjištěné v sušině *Daphnia magna*, byly obsaženy v adekvátním množství pro všechny věkové kategorie. Obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin v tucích *Daphnia magna* byl 18,70, respektive 66,20 %. Obsah nenasycených mastných kyselin skupiny omega-3 byl stanoven na 27,30 %. Poměr omega-3 : omega-6 byl 5,68 : 1, což plně splňuje kapří nutriční potřebu (tabulka 3).

Ze sladkovodního zooplanktonu používaného pro krmení juvenilních kaprů jsou nejdůležitější vířníci, perloočky a copepoda. *Daphnia magna* obsahuje 91,6 % vody; 2,98 % proteinu; 0,78 chitinu; 0,62 tuků; 2,62 % dusíkatých látek a 1,62 % popelovin. Podobné hodnoty složení *Daphnia magna* byly publikovány i následujícími autory. *Daphnia magna* obsahuje 86,4–97,6 % vody, 1,3–5,4 % bílkovin, 0,1–0,8 % surového tuku a 0,6–4,0 % sacharidů v čerstvé hmotě. Tito autoři publikovali, že obsah tuků se zvyšuje s věkem (Bogut a kol, 2010).

Tabulka č. 1 - Základní chemické složení těla *Daphnia magna* a larev *Chironomus plumosus* (v %)

komponent	<i>Daphnia magna</i>		<i>Chironomus plumosus</i>	
	čerstvá hmota	sušina	čerstvá hmota	sušina
voda	97,4		87,9	
protein	1,2	39,2	7,6	55,7
lipidy	0,2	5	1,3	9,7
bezdušikaté látky	0,8	27,3	2,1	26,4
popeloviny	0,4	14,6	1,1	8,2

zdroj: Adámek a kol., 2008

Tabulka č. 2 - Obsah esenciálních aminokyselin v organismu *Daphnia magna* a nutriční požadavky kapra (v %)

aminokyselina	<i>Clorela</i>	<i>Daphnia magna</i>		nutriční nároky kapa (v % sušiny)
	sušina	čerstvá hmota	sušina	
arginin	2,39	0,059	1,6	1,96
histidin	0,65	0,026	0,8	0,86
izoleucin	1,69	0,053	0,9	1,76
leucin	1,99	0,08	1,3	2,66
valin	2,67	0,048	1,4	1,59
lyzin	2,43	0,071	2,2	2,36
fenylalanin	2,14	0,059	2,5	1,96
metionin	0,57	0,037	1,2	1,23
treonin	1,91	0,047	1,5	1,56
tryptofan	0,41	0,028	0,3	0,93

zdroj: Adámek a kol., 2008

Tabulka č. 3 - Obsah mastných kyselin u vybraných planktonních druhů

Mastné kyseliny	16:1	18:1	18:2	18:3	C_20	C-22
Organismus	(n-7)	(n-9)	(n:6)	(n:3)	polyens	polyens
<i>Cyclops streanus</i>	2,3	3,6	2,2	7,6	17,0	35,9
<i>Eudiaptomus gracilis</i>	6,3	5,3	10,4	5,5	15,2	13,6
<i>Daphnia magna</i>	4,2	20,9	4,1	13,4	24,8	0
<i>Daphnia cucullata</i>	8,6	9,3	8,4	6,8	13,9	3,4

Zdroj: Adámek a kol., 2008

## 1. 4 Žábřonožka solná *Artemia salina*

### 1. 4. 1 Popis

Druh *Artemia salina* je oficiálně vyhynulý. Toto označení totiž nosil korýš v minulosti žijící v dnes již neexistujícím britském jezeru Livington, nicméně artemie používané v krmení ryb se tak i nadále označují.

V současné době existuje na světě sedm druhů tohoto živočicha. *Artemia tunisiana* (Evropa a severní Afrika); *Artemia species* (Amerika, část Evropy, Asie); *Artemia franciscana* (Amerika, část Evropy); *Artemia parthenogenetica* (Evropa, Afrika, Asie, Austrálie); *Artemia sinica* (střední Asie, Čína); *Artemia persimilis* (Argentina); *Artemia urmiana* (Írán) (Slanina, 2010).

Řád žábřonožek patří do podtřídy lupenonožců, *Phyllopoda*. Tělo, které nikdy nemají pokryto schránkou, je protáhlé, měkké a článkované. Druhy v tomto řádu dosahují velikosti 5 – 70 mm. *Artemia* dorůstá 12 – 18 mm a dožívá se 4 až 6 měsíců (Kočí a kol., 2001). Jejich zbarvení se různí od zelenavé po jasně červenou podle potravy a koncentrace kyslíku ve vodě (Slanina, 2010).

Žábřonožky obývají slané stojaté vody, často se vyskytují v periodických vodách. Žábřonožka solná je celosvětově rozšířený druh, hojně se vyskytující v přímořských a vnitrozemských tůních, slaných jezerech a solných dolech s mírně až velmi slanou

vodou. Při vhodných podmínkách je její výskyt možný i u nás. I když jde o korýše potřebující pro život slanou vodu, nevykytuje se v mořích a oceánech, pouze ve slaných jezerech (Kočí a kol., 2001).

Artemia obývá slaná jezera s vodou obsahující chloridy, sírany a uhličitany. Koncentrace soli (salinita) vody v nich může dosáhnout až 300 promile (tj. 300 gramů v jednom litru vody). Díky její přizpůsobivosti pro ni není slanost limitující, takže je schopna obývat i sladké vody. Není pro ni limitující ani nízký obsah kyslíku, minimální koncentrace jsou na úrovni 0,6 mg/l pro dospělé jedince a 0,3 mg/l pro nauplie. Je odolná vůči změnám a znečištění životního prostředí včetně vysokých koncentrací sirovodíku (Slanina, 2010).

Artemie se rozmnožují dvěma způsoby: pohlavním a partenogenezí. Ve vhodných podmínkách samice klade do děložních komor vajíčka, ta se vyvíjejí a rodí se živé nauplie. Ve zhoršených podmínkách samice klade trvalá vajíčka s mnohem tvrdší skořápkou a velkou životaschopností, nesprávně (ale běžně) nazývané cysty. Během pozastaveného vývoje (diapauzy) projevují cysty mimořádnou odolnost (Slanina, 2010).

Vajíčka žábřonožky solné jsou u nás komerčně dostupná v konzervách dovážených výhradně z USA, například firmou Ocean Star International, Inc. Vajíčka žábřonožek jsou sbírána ve Velkém solném jezeře v Utahu. Jsou očištěna a upravena tak, aby mohla být vakuově balena do konzerv. Běžně jsou po vylíhnutí používána jako krmivo pro akvarijní ryby (Kočí a kol., 2001).

Při namočení cysta přijímá prvních 24 hodin vodu o množství asi 1,4násobku původní hmotnosti, poté se zárodek začíná vyvíjet. V cystě se objevuje štěrbina a tou ji zárodek ve velikost asi 0,45 mm a s váhou asi 0,01 mg opouští. Aktivní pohyb nauplií nastává až po zbavení se veškerých obalů. Během prvních 10 – 12 hodin se nauplie nakrmí, ovšem po této době dochází k prvnímu svlékání a nauplie začíná filtrovat vodu. Během růstu trvajících asi osm dní se svléká až patnáctkrát (Slanina, 2010).

#### **1. 4. 2 Formy artemie používané v akvakultuře**

- Vajíčka zbavená skořápky – dekapsulovaná, jsou výtečným krmivem s vysokým obsahem proteinu pro plůdek a malé druhy ryb.

- Nauplie jsou počátečním krmivem pro mladé akvarijní rybky.
- Dospělá artemia je skvělým krmivem pro většinu druhů dospělých ryb

Krmení artemií má nespočet výhod: lze ji nejen poměrně snadno získat a připravit v libovolném množství a době, ale je ceněná pro svůj vysoký obsah bílkovin, tuků, karotenoidů a vitamínu B12 (až 7,2 mkg/g). Měkký krunýř nauplií usnadňuje příjem i trávení (Slanina, 2010).

### **1. 4. 3 Skladování**

Suché cysty je nutno skladovat pouze v nepromokavých obalech, jinak mohou zárodky zahynout a to i přes jejich extrémní životaschopnost. Cysty jsou velmi hygroskopické a i pouhé nasávání vzdušné vlhkosti urychluje interní metabolické procesy. V důsledku toho pak cysta vyčerpá své energetické zdroje (Slanina, 2010). Před otevřením konzervy je nutno skladovat ji v suchu a chladu. Líhivost zárodků bývá dodavateli garantována kolem jednoho roku, ale i několik let stará vajíčka lze bez problémů použít (Kočí a kol., 2001).

### **1. 4. 4 Líhnutí vajíček**

Do laboratorně připravené vody zpravidla o salinitě 1,2 - 3,0 % NaCl se nasype malé množství vajíček. Je nutné vodou míchat, což se dociluje aerací nebo vzduchováním. Tím se docílí, že vajíčka neleží na dně, nebo neplují na hladině. Teplota pro líhnutí je nejvhodnější při 27 – 29 °C. Za této teploty dochází k líhnutí asi po 18 a 24 hodinách. Při snížení teploty dochází k prodloužení doby líhnutí o několik hodin. Po vylíhnutí se nauplia drží u světla nebo u dna, prázdné skořápky jsou na hladině a nevylíhlá vajíčka u dna.

Z jedné konzervy lze získat až několik miliónů žábřonožek, u nichž je zaručena vysoká homogenita – stejné vlastnosti. Při normálních podmínkách lze z jednoho gramu kvalitních cyst získat 200 až 300 nauplií. V ideálních podmínkách je líhivost až na úrovni 95 %, ovšem v domácích podmínkách může dosahovat pouze 40 % (Slanina, 2010).

### 1. 4. 5 Biochemické složení artemie (Browne a kol., 1991)

Artemie v instaru I nemají shodnou hmotnost sušiny ani individuální energetický obsah. Ten je závislý na velikosti vajíčka i vylíhlé nauplie. Hmotnost sušiny očekáváme kolem 1,6 - 3,3  $\mu\text{g}$  na nauplii a energetický obsah kolem 0,037 - 0,073 J.

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

Mastné kyseliny jsou, díky brzkému objevení, pravděpodobně nejsledovanější biochemický komponent. Jak uvádí Watanabe a kol. (1978) rozvětvené esenciální mastné kyseliny jsou v artemii různé. Souhrnný výsledek kontroly výsledků různých autorů ukázal, že šest mastných kyselin MK 16 : 0, 16 : 1 (n-7), 18 : 1 (n-7), 18 : 2 (n-6), 18 : 3 (n-3) normálně tvoří kolem 80 % celkových mastných kyselin ve vzorku artemie. Nasycené a nenasycené MK těchto skupin 16 : 0, 16 : 1 (n-7), 18 : 1 (n-7) typicky zahrnují 40 – 60 % celkových MK. Watanabe a kol. (1978) stejně jako Mezinárodní studie artemie a ostatní práce na artemii determinuje n-3 skupinu MK, 18 : 3 (n-3) a 18 : 5 (n-3), jako nutričně efektivnější než ostatní samostatné biochemické komponenty. Linolenová kyselina je esenciální pro sladkovodní organismy, zatímco eikosapentaenová kyselina je esenciální pro mořské organismy. Je-li jedna z nich v nedostatku, nebo chybí úplně, je taková artemie chudá pro daný organismus. Normální vzorky artemie obsahují buď a) 18 : 3 množství víc než 20 % všech MK a 20 : 3 množství méně než 5 %, nebo 18 : 3 v množství pod 10 % všech MK a 20 : 3 v množství mezi 5 – 13 %.

Složení MK je negenetické, jak zjistil Lavens a kol. (1995), MK adultních artemií, stejně jako MK vajíček je závislé na krmení. Asi i díky tomu v posledních letech mají vajíčka z Velkého slaného jezera vysoký obsah 13 : 3 (n-3) a nízký obsah 20 : 5 (n-3).

Aminokyselinové složení v naupliích si je až pozoruhodně podobné, a proto lze říci, že jejich obsah neovlivňuje prostředí, jako tomu je u MK. Artemie normálně obsahuje všech 10 esenciálních aminokyselin pro ryby.

Byla prokázána i přítomnost několika proteolytických enzymů v naupliích artemie, což může v těle ryb hrát důležitou roli při trávení těchto nauplií, čímž je zvýšena účinnost i pro jiná podávaná krmiva.



## 1. 5 Vliv zmrazení na hodnotu krmiva

Zooplankton doplněný o nejrůznější druhy vířníků a artemií je velmi často používané krmivo nejen mezi akvaristy, ale i v produkci hospodářsky významných druhů sladkovodních i mořských ryb. Je zkrmován v několika typech, a to jako živý, nebo konzervovaný. Jako konzervace je často využito právě jeho zmrazení i díky dlouhé skladovatelnosti. Ovšem post mortem protein se pravděpodobně díky vysoké enzymatické aktivitě znehodnocuje a díky tomu je stále více aminokyselin nacházeno ve volném stavu, což závisí i na času od získání. Čím delší čas, tím více bude volných aminokyselin. Je nutné také zdůraznit, že při  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$  je vyšší obsah volných esenciálních aminokyselin, než při hlubokém zamrazení  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tím se rapidně snižuje kvalita krmiva, protože ryby nejsou schopny syntetizovat některé aminokyseliny a ty musí být dodány v potravě. Při krmení a tedy zavedení krmiva do vody jsou volné aminokyseliny vyplavovány a tím jsou nedostupné. Tento proces je zpomalen u zooplanktonu mraženého šokově (Overein, 2001).

Larvy *Heteroclaris* a *Clarias gariepinus* krmené živými dafniemi rostly lépe v porovnání s tempem růstu než ty, které byly krmeny zmrazenými dafniemi, avšak lépe přeživaly, než ty, které byly krmeny živými dafniemi. Larvy *Heteroclaris* krmené živou a mraženou dafnií se vyvíjely a přeživaly lépe než *Clarias gariepinus*. Proto je živá dafnie doporučena jako výživa pro larvy, zmrazenou dafnií lze použít jako doplněk (Ojutiku, 2008).

Jak bylo zjištěno při zkoumání krmiv pro tržní ryby, sušením a zmrazením dochází k velkým živinovým ztrátám, a to hlavně k vyplavení volných aminokyselin i části aminokyselin z bílkovin do vody. Tím jsou nevyužitelné. Ztráty se zvyšují dobou, po kterou leží krmivo ve vodě, i slaností (Novák, 2010).

## 2. MATERIÁL A METODIKA

V této práci je sledován růst a přežití medaky japonské *Oryzias latipes* od období naučení na předkládané krmivo, kterým byla žábřonožka solná *Artemia salina*. Cílem tohoto pokusu bylo zjistit, zda úprava krmiva mražením a rozmrazováním při různé teplotě má vliv na přežití a růst ryb.

### 2. 1 Generační ryby a metodika jejich chovu

Generační ryby použité v tomto chovu pocházejí z laboratorních podmínek ústavu zoologie Technische Universität Dresden v Německu a jsou tvořeny linií Q2d-rR.YHNI. Pro tuto linii je typická téměř absolutní absence melanocytů a přítomnost oranžovo-červených chromatoforů u samců.

Velikost generačního hejna byla asi 150 až 200 ryb s mírnou převahou samic. Generační ryby byly chovány v nádrži o rozměrech 490 x 290 x 350 mm a objemu 49,75 litrů, která byla naplněna asi 5 až 10 cm pod okraj. Vybavení nádrže splňovalo podmínky vhodné pro rozmnožení tohoto druhu, tzn. nádrž obsahovala 100W topítko ohřívající vodu v nádrži na 25 – 26 °C, teploměr, molitanový filtr poháněný vzduchem sloužící i jako vzduchování, vzduchovací kamínek, osvětlení zářivkovou trubicí HAILEA DGEB-YZ-T8 tropical red o výkonu 25 W a délce 740 mm a trs rostliny *Vesicularia dubyana* (jávský mech, měchýřovka jávská). Světelná perioda byla udržována pomocí samočinných spínacích hodin na 14 hodinách světla a 10 hodinách tmy. Tento režim a roční doba (předjaří) byl pro ryby stimul ke tření. Po pravidelném tření většiny ryb v dostatečném množství byla světelná perioda změněna o hodinu ve prospěch dne, na což ryby reagovaly větším počtem jiker. Hygiena nádrže, tzn. odstraňování zbytků potravy a výkalů, byla prováděna každý den odsátím pouze nezbytného množství vody. Jeden až dvakrát týdně, dle potřeby, byla navíc vyměněna asi polovina vody, voda byla dopouštěna odstátou a vytemperovanou vodou. Molitanový filtr poháněný vzduchem byl v provozu po celou dobu, stejně jako vzduchovací kamínky. Filtr byl čištěn 1x za týden při „velkém“ čištění. Asi 1x za měsíc byly taktéž otřeny stěny akvárií od nárostů řas.

Krmení probíhalo 2 až 3x denně, jednou až dvakrát denně artemií (nejčastěji ráno) živinové složení uvádí tabulka č. 4 a jednou denně mraženým zooplanktonem (buchanka) dodávaným firmou Koblasa.

Tabulka č. 4 - Živinné složení artemie. garantované na obalu

Živinné složení artemie (v sušině):	
<b>Bílkoviny</b>	min. 54 %
<b>Sacharidy</b>	min. 15 %
<b>Tuky</b>	min. 20 %
<b>Popeloviny</b>	max. 12 %

Zdroj: Obal artemie Easyfish

### **2. 1. 1 Výtěr generačních ryb a odběr jiker**

K výtěru docházelo spontánně v odchovné nádrži, ryby nebyly párovány ani nijak selektovány. Výtěr probíhal ráno, několik hodin po rozsvícení, kdy se vytřela většina ryb. Zbytek ryb se vytřel po dopoledním nakrmení. Odebírání jiker probíhalo v odpoledních hodinách, kdy již samice všechny jikry otřely do rostlin. Jikry byly z rostlin opatrně odebrány pomocí jemné pinzety a preparační jehly a uloženy do asi litrové misky s odstátou vodou k inkubaci, výška vodního sloupce byla několik centimetrů. Jikry ze dna byly odebrány uloženy k inkubaci s ostatními jikrami. Do jedné misky byly uloženy jikry z výtěrů ze dvou dnů. Po celou dobu inkubace bylo nutné každý den vyměnit část vody, jikry kontrolovat, odstraňovat neinkubující se jikry a shluky jiker rozdělovat, aby byly jikry co nejdále od sebe. Tím se zamezilo plísňové infekci a ztrátě všech jiker. Plísňovým infekcím lze taktéž zabránit aplikací roztoku vody a metylénové modře o koncentraci 1 mg.l<sup>-1</sup>. Během inkubace ryb pro pokus tento roztok nebyl použit, protože ztráty na plůdku při použití výše uvedené metody byly stejné jako inkubace v čisté vodě. Ztráty během inkubace dosahovaly max. do 30 %.

### **2. 1. 2 Odlov embrya, jeho rozkrm a nasazení do pokusu**

Po vykulení byla embrya odlovena pomocí zvonu a nasazena do misky o objemu 5 litrů, ve které probíhal rozkrm po dobu týdne. Embrya do jedné misky byla odlovena během jednoho dne ze všech inkubačních misek. Takto bylo získáno cca několik set ryb, což po týdnu rozkrmu stačilo na nasazení jednoho opakování pokusu. Larvy medaky byly krmeny artemií v množství ad-libitum.

Po rozkrmení byly ryby změřeny, spočítány, selektovány na případné deformace a odchylky v růstu a nasazeny do odchovného akvária rozděleného sítkou na 4 shodná oddělení (příloha 4), v počtu 100 kusů do jednoho oddělení. Z technických důvodů nebylo možné temperovat nádrž na shodnou teplotu během průběhu celého pokusu, proto byla voda shodná s okolním prostředím (příloha 5).

## **2. 2 Příprava živé potravy**

Líhnutí trvalých vajíček (cyst) artemie bylo prováděno ve dvoulitrových PET lahvích naplněných asi do  $\frac{3}{4}$ , tzn. asi 1,5 litru odstáté vody. Bylo přidáno asi 10 – 15 g kuchyňské soli (NaCl) a asi 2 – 5 g vajíček artemie podle potřeby. Do lahví bylo zavedeno vzduchování, což způsobovalo kontinuální promíchávání a prokysličování celého objemu. Tyto „inkubátory“ byly umístěny ve vodní lázni o teplotě 28 °C a byly po celou dobu osvětlovány zářivkou. Tím byly navozeny optimální podmínky pro líhnutí, které trvalo asi 24 hodin. Nasazení vajíček k inkubaci bylo prováděno každodenně dle potřeby. Po vylíhnutí se láhev nechala v klidu bez vzduchování a tím se oddělily vylíhlé artemie (na dně a u zdroje světla) od prázdných slupek vajíček (u hladiny). Artemie byly poté odsáty na sítko a po okapání přebytečné vody se krmily nebo jinak upravovaly.

### **2. 2. 1 Příprava krmiva**

Testované varianty krmení zahrnovaly:

- a) živé artemie,
- b) trvale zamrazené artemie na -14 °C,
- c) artemie zamrazené na -14 °C, rozmrazené na 25 °C a opět zamrazené na -14 °C,
- d) artemie zamrazené na -14 °C, rozmrazené na 4 °C a opětovně zamrazené na -14 °C.

Pro přípravu mrazem upravené diety byla použita živá a zfiltrovaná artemie umístěná do PE sáčků a umístěná na 20 dní do mrazicího boxu – do teploty -14 °C. Po 20 dnech byla část artemie ponechána v boxu jako trvale zamrazená artemie, zbytek artemie byl umístěn do ledničky – do 4 °C po dobu 20 hodin, po 20 hodinách byla část artemie umístěna do mrazicího boxu do teploty -14 °C a zbytek byl umístěn na 20 minut do vodní lázně o teplotě +25 °C a opět zamrazen na teplotu -14 °C. Tyto uvedené doby u rozmrazování byly plně dostačující pro rozmrazení a prohřátí celého objemu vzorku.

Pro velký objem připravovaných vzorků nebylo možné zajistit je všechny z jedné šarže artemií, proto byla použita dvě balení artemie.

### **2. 3 Průběh pokusu**

Do pokusu byly nasazeny týden odkrmené ryby, tím se zabránilo ztrátám při přechodu na předkládanou dietu. Ryby byly přebrány a změřeny, až poté byly nasazeny k pokusu. V každém oddělení odchovného akvária bylo zajištěno vzduchování pomocí vzduchovacího kamínku. Tím se zajistilo i promíchání vody ve vodním sloupci. Teplota vody byla  $18,6 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , avšak kvůli technickým úpravám v odchovně ryb došlo k jednorázovému poklesu teploty až na  $14,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu několik hodin. Během pokusu byly ryby připravenou dietou krmeny dva až třikrát denně a v množství ad-libitum. Každá dávka byla vážena, aby nedošlo k nestejnomyšlnému krmení jednotlivých skupin. Aktuální dávka mraženého krmiva byla nejprve rozpuštěna v malém objemu vody o teplotě cca  $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$  a po úplném rozpuštění pomalu vlita do odchovné nádrže. 10 minut po nakrmení byla nádrž opatrně promíchána, aby se rozmražená artemie usazená na dně dostala do vodního sloupce a mohla být snadněji přijata rybami. Každý den byla odsávána část vody, asi  $\frac{1}{2}$  objemu, čímž byly odstraněny exkrementy i nezkrmené zbytky potravy.

### **2. 4 Metodika měření**

Měření probíhalo v přesně stanovené dny tzn. 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 dní od nasazení. Měřeno bylo vždy alespoň 10 kusů ryb. Ryby byly narkotizovány v hřebíčkovém oleji (Clove Leaf Oil, Purity Australia Pty. Ltd., Austrálie) o objemu 1 kapky na 300 ml vody a následně došlo pod binolupou k měření jejich délky těla (Standard Length) v milimetrech. Na začátku a konci pokusu byla u ryb změřena délka celková (Total Length). Na konci pokusu byly ryby změřeny a zváženy. Z délkových parametrů byla vypočtena specifická rychlost délkového růstu. Přežití larev v experimentu bylo vyhodnoceno prostým a kumulativním přežitím. Ve výpočtech byly použity průměrné hodnoty ze tří opakování. K průměrům byl využit program Microsoft Office Excel.

### Specifická rychlost délkového růstu SLGR (% . den<sup>-1</sup>)

$$SLGR = [(\ln l_t - \ln l_0) \cdot t^{-1}] \cdot 100$$

$l_t$  - celková délka na konce sledovaného období

$l_0$  – celková délka na začátku sledovaného období

$t$  – počet dní za období

### Přežití prosté

$$P_P = \frac{m_t}{m_0} \cdot 100$$

$m_t$  – počet ryb na konci pokusu

$m_0$  – počet ryb na začátku pokusu

### Přežití kumulativní

$$P_k = \frac{P_{p1} \cdot P_{p2}}{100^{n-1}}$$

$P_{p1}$  – prosté přežití z prvního období pokusu

$P_{p2}$  – prosté přežití z druhého období pokusu

$n$  – počet období

## 2. 5 Příprava krmiva k chemickým rozborům

Analýzy byly prováděny v laboratořích Oddělení rybářství a hydrobiologie, Ústavu výživy zvířat a pícninářství a Ústavu chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně. Pro nebezpečí vzniku hnilobných procesů nebylo možné převážet živou artemii v čerstvém stavu, proto bylo přistoupeno k jejímu zamrazení. K rozborům byl dán celý obsah PE sáčků, tedy i s vyplavenou buněčnou šťávou. Upravovaná artemie, tzn. a) trvale zamrazená na -14 °C, b) zamrazená na -14 °C, rozmrazená na +25 °C a opětovně zamrazená na -14 °C, a c) zamrazená na -14 °C, rozmrazená na 4 °C a opětovně zamrazená na -14 °C, byla upravena stejně ve všech případech. Nejprve byla rozmrazena ve vodní lázni o teplotě + 20 °C propláchnuta vodou a následně zfiltrována a opět pro prevoz zamrazená. Před samotným rozbořem byla rozmrazena na 20 °C a přebytečná voda (buněčná šťáva) se nechala odkapat. Chemické rozborů byly zaměřeny

jak na základní stanovení absolutní sušiny, tuku, popela a bílkoviny, tak i na obsahy aminokyselin a mastných kyselin. Úprava odpovídá procesu vyplavování živin, který probíhá ihned po vložení artemie do vody při krmení.

## **2. 6 Analýzy vzorků artemií**

### **2. 6. 1 Metodika analýz**

#### **2. 6. 1. 1 Sušina, tuk, dusíkaté látky, popeloviny**

Sušina byla stanovena při 105 °C (po 24 h vysoušení). Soxhletova extrakce diethyleterem byla použita pro stanovení tuků, extrakce probíhala po dobu 10 hodin. Dusíkaté látky byly stanoveny Kjehldalovou metodou (stanoven obsah dusíku s vynásobením koeficientem 6,25) s použitím přístroje Kjeltec 23. Popeloviny byly stanoveny gravimetrickou metodou po spálení při teplotě 550 °C.

#### **2. 6. 1. 2 Metodika stanovení AA - Ionexová chromatografie s VIS detekcí**

Analýzy aminokyselin byly provedeny z předsušeného a homogenizovaného vzorku. Pro analýzu aminokyselin byl použit kapalinový chromatograf AAA 400.

Vzorek (~ 0.1 g) byl hydrolyzován koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou po dobu 24 hodin za teploty 120 °C a působení mikrovlnného záření o hodnotě 80 W. Hydrolýza probíhala za nepřístupu vzduchu v uzavíratelných plastických vialkách.

#### **2. 6. 1. 3 Analýza mastných kyselin (MK)**

Pro stanovení spektra mastných kyselin byla použita metoda dle Folsch a kol., (1957). Extrakce MK ze vzorku byla provedena směsí metanolu a chloroformu. Vlastní analýza byla provedena na plynovém chromatografu HP 4890D, kapilární kolona DB-23 (60m x 0,25mm x 0,25µm).

Hodnoty všech parametrů jsou průměrem ze dvou opakování, pro stanovení obsahu MK byly z každého vzorku odebrány tři dílčí vzorky, každý z nich byl opět analyzován dvakrát.

## **2.7 Statistické hodnocení dat**

Všechny statistické analýzy byly vypočteny programem statistika 10.0. Normální rozdělení dat bylo zjišťováno testem Kolmogorov-Smirnov a homogenita variance Bartlett's testem. Přežití a změna velikosti mezi jednotlivými způsoby odchovu byly porovnány jednofaktorovou ANOVOU (Lepš, 1996).



## 3. VÝSLEDKY

### 3. 1 Růst a přežití

Při porovnání růstu halančíka rýžovištního v závislosti na různých dietách se ukázalo, že skupiny ryb krmené živou artemií rostly lépe (graf 1). Měření v 60., 80. a 100. dni ukázalo, že signifikantně nejvyššího přežití dosahují ryby krmené artemií živou, ve 40 a 120 dnech dosahovaly nejvyššího přežití ryby krmené živou artemií a ryby krmené artemií trvale zamrazenou na  $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Již od 20. dne se ukázalo, že ryby krmené artemií rozmrazenou  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  opět zamrazenou rostou v nejméně.

Délka těla u ryb krmených živou artemií byla na konci pokusu  $12,40\text{ mm} \pm 0,526\text{ mm}$ ; u ryb krmených trvale zamrazenou artemií  $11,58\text{ mm} \pm 0,526\text{ mm}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $10,90\text{ mm} \pm 0,222\text{ mm}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  opět zamrazenou  $10,60\text{ mm} \pm 0,353\text{ mm}$ .

Celková délka byla na konci pokusu o  $1,8\text{ mm} \pm 0,2\text{ mm}$  větší než délka těla.

Specifická rychlost délkového růstu SLGR byla u ryb krmených živou artemií  $9,83\text{ \%}\cdot\text{d}^{-1}$ ; u ryb krmených trvale zamrazenou artemií  $8,67\text{ \%}\cdot\text{d}^{-1}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $8,90\text{ \%}\cdot\text{d}^{-1}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  opět zamrazenou  $8,49\text{ \%}\cdot\text{d}^{-1}$ .

Průměrná individuální hmotnost ryb krmených živou artemií byla na konci pokusu  $0,1117\text{ g} \pm 0,368\text{ g}$ , u ryb krmených trvale zamrazenou artemií  $0,0788\text{ g} \pm 0,052\text{ g}$ , u ryb krmených artemií rozmrazenou na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $0,0653\text{ g} \pm 0,139\text{ g}$ , u ryb krmených artemií rozmrazenou  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $0,0733\text{ g} \pm 0,065\text{ g}$ .

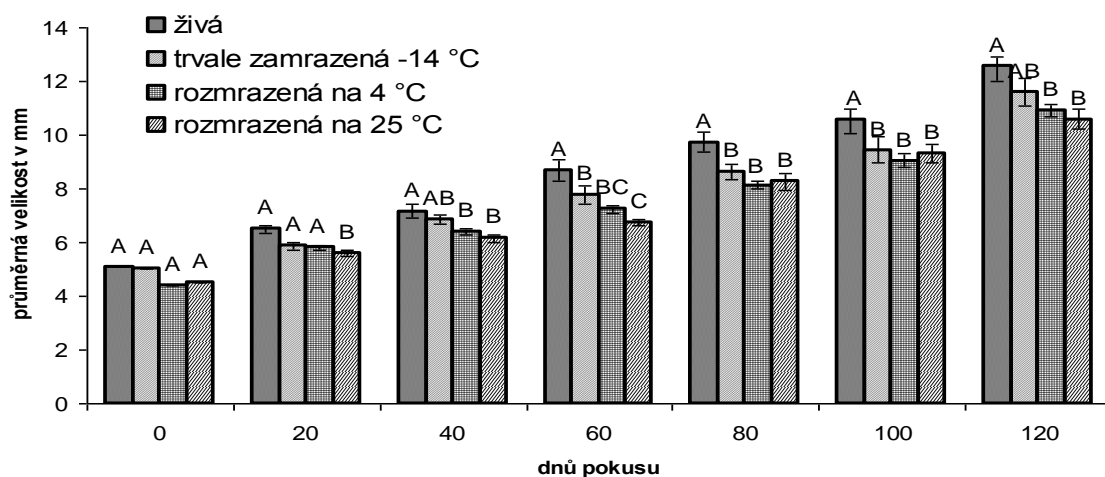
Dalším sledovaným ukazatelem je přežití halančíka rýžovištního v závislosti na různých dietách. Během obou přelovení (60. a 120. den) se ukázalo, že signifikantně nejvyššího přežití (prostého i kumulativního) dosahovaly ryby krmené živou artemií (tabulka 5).

Hodnoty dosaženého prostého přežití ( $P_p$ ) byly konci sledovaného období u ryb krmených živou artemií  $91,67\text{ \%}$ ; u ryb krmených trvale zamrazenou artemií  $81,67\text{ \%}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $81,00\text{ \%}$ ; u ryb krmených artemií rozmrazenou  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opět zamrazenou  $81,33\text{ \%}$ .

Hodnoty dosaženého kumulativního přežití ( $P_k$ ) byly konci sledovaného období u ryb krmených živou artemií 87,08 %; u ryb krmených trvale zamrazenou artemií 73,77 %; u ryb krmených artemií rozmrazenou na 4 °C a opět zamrazenou 73,17 %; u ryb krmených artemií rozmrazenou 25 °C a opět zamrazenou 73,74 %.

Graf č. 1 – Průměrný růst halančika rýžovištního na základě různé diety (v 1. skupině ryby krmené živou artemií, ve 2. skupině krmené trvale zamrazenou artemií, ve 3. skupině krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na + 25 °C) a ve 4. skupině krmené opakovaně zamrazenou (rozmrazenou 1x na 4 °C)

### Průměrný růst halančika rýžovištního na základě různé diety



Tabulka č. 5 - Průměrné hodnoty přežití halančika rýžovištního krmeného 4 různými dietami

dieta	živá	trvale zamrazená	rozmrazená na 4 °C	rozmrazená na 25 °C
dny odchovu				
0	100	100	100	100
60	95	90	90	91
120	92	82	81	81

Během celého experimentu se i přes důkladné sledování nevyskytly žádné deformace.

### 3. 2 Složení krmiva – artemie

Celkově lze říci, že i když živá artemie neobsahuje všechny sledované látky v nejvyšší míře, zdá se být jako nejvhodnější, zatímco artemie trvale zamrazená na -14 °C se zdá jako nejméně vhodná, avšak bez velkých rozdílů oproti ostatním dietám (tabulka 6).

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

Tabulka č. 6 - Výsledky základní analýzy sušiny, tuku, popelovin a dusíkatých látek v sušině a čestvé hmotě.

Vzorek	Sušina (%)	Tuk (%)		Popel (%)		Dusíkaté látky (%)	
		Sušina	Čerstvá	Sušina	Čerstvá	Sušina	Čerstvá
Živá Art	16,61	22,69	3,77	11,04	1,83	52,18	8,67
-14°C Art	18,43	16,75	3,09	5,96	1,1	57,03	10,51
+25°C Art	19,81	19,91	3,94	5,25	1,04	60,93	12,07
+4°C Art	18,48	21,12	3,9	4,49	0,83	60,78	11,23

#### 3. 2. 1 Obsah aminokyselin

Jako nejvíce vhodná úprava krmiva z hlediska obsahu aminokyselin se zdá být jeho zamrazení na - 14 °C, rozmrazení na 25 °C a opětovné zamrazení na - 14 °C. Jako nejméně vhodná se jeví artemie bez úpravy, tzn. živá, a úprava pouze trvalým zamrazením na - 14 °C (tabulka 7).

#### 3. 2. 2 Výsledky analýz obsahu mastných kyselin

Jako nejvhodnější úprava krmiva z hlediska mastných kyselin se jeví úprava trvalým zamrazením na - 14 °C, jako nejméně vhodné krmivo se v tomto směru jeví artemie bez úpravy, tedy živá (tabulka 8).

Mastné kyseliny C22:4n6c až C22:n3c, tzn. poslední 4 hodnocená kritéria byla pod limitem detekce nebo ve vzorcích nejsou, což ovšem není pravděpodobné.

Tabulka č. 7 - Obsah aminokyselin (v g na kg sušiny vzorků)

Vzorek	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	His	Lys	Arg
Živá Art	41,89	13,69	23,93	8,11	47,52	44,02	101,48	0,25	33,56	8,85	23,43	33,45	2,74	19,95	8,31	24,59	24,28
-20°C Art	50,26	9,67	9,08	52,58	40,09	41,1	87,2	5,53	36,54	7,27	22,34	33,43	12,11	26,31	8,93	37,61	24,85
+25°C Art	57,81	14,59	29,65	68,62	46,15	23,71	63,09	2,08	34,96	11,13	24,36	39,22	12,78	31,93	12,12	44,64	37,91
+4°C Art	55,18	13,34	19,38	61,2	52	41,64	91,23	2,67	38,86	9,29	23,8	38,17	6,86	24,79	8,28	38,37	29,29

Tabulka č. 8 - Obsah mastných kyselín a jejich profil (g.kg<sup>-1</sup> vzorku)

dieta	Živá	Trvale zamrazená na - 14 °C	Rozmrazená na 4 °C	Rozmrazená na 25 °C
<b>MK</b>				
<b>C14:0</b>	0,213 ± 0,023	0,093 ± 0,005	0,312 ± 0,007	0,265 ± 0,008
<b>C16:0</b>	1,203 ± 0,119	1,627 ± 0,115	2,547 ± 0,139	2,507 ± 0,067
<b>C16:1n7c</b>	1,855 ± 0,214	0,252 ± 0,015	2,269 ± 0,176	1,568 ± 0,046
<b>C18:0</b>	0,576 ± 0,053	0,723 ± 0,036	1,142 ± 0,099	1,06 ± 0,023
<b>C18:1n9c</b>	2,6 ± 0,254	2,681 ± 0,163	5,028 ± 0,560	4,554 ± 0,110
<b>C18:1n7c</b>	1,656 ± 0,162	0,699 ± 0,034	2,437 ± 0,320	1,822 ± 0,043
<b>C18:2n6c</b>	0,658 ± 0,072	0,836 ± 0,053	1,504 ± 0,230	1,363 ± 0,032
<b>C18:3n6c</b>	0,039 ± 0,004	0,083 ± 0,003	0,103 ± 0,021	0,086 ± 0,002
<b>C18:3n3c</b>	1,138 ± 0,127	5,068 ± 0,277	5,424 ± 1,035	5,811 ± 0,147
<b>C18:4n3c</b>	0,481 ± 0,044	0,96 ± 0,038	1,389 ± 0,295	1,302 ± 0,021
<b>C20:1n9c</b>	0,062 ± 0,009	0,078 ± 0,005	0,133 ± 0,030	0,112 ± 0,003
<b>C20:4n6c</b>	0,195 ± 0,016	0,049 ± 0,002	0,257 ± 0,068	0,158 ± 0,004
<b>C20:4n3c</b>	0,115 ± 0,018	0,151 ± 0,07	0,267 ± 0,069	0,217 ± 0,006
<b>C20:5n3c</b>	2,793 ± 0,309	0,174 ± 0,008	3,535 ± 0,999	1,981 ± 0,042
<b>C22:4n6c</b>	0	0	0	0
<b>C22:5n6c</b>	0,006 ± 0,002	0	0,007 ± 0,002	0
<b>C22:5n3c</b>	0	0	0	0
<b>C22:6n3c</b>	0,031 ± 0,007	0	0,057 ± 0,021	0,026 ± 0,001
<b>SFA</b>	14,622 ± 0,129	18,122 ± 0,311	16,077 ± 0,101	16,783 ± 0,034
<b>MUFA</b>	45,322 ± 0,054	27,53 ± 0,424	38,392 ± 0,070	35,283 ± 0,046
<b>PUFA</b>	40,056 ± 0,121	54,347 ± 0,724	45,531 ± 0,154	47,934 ± 0,079
<b>Σ (n-6)</b>	6,596 ± 0,071	7,182 ± 0,051	7,011 ± 0,054	7,037 ± 0,014
<b>Σ (n-3)</b>	33,46 ± 0,166	47,165 ± 0,706	38,52 ± 0,109	40,897 ± 0,084
<b>Σ (n-3)/(n-6)</b>	5,073 ± 0,075	6,567 ± 0,94	5,494 ± 0,032	5,811 ± 0,019

## 4. DISKUSE

Mnoho prodejců akvarijního krmiva i někteří chovatelé v akvaristických diskusích uvádějí, že mražený zooplankton i artemie je plnohodnotnou náhražkou živého krmiva, bez změn z nutričního hlediska i bez vlivu na chované ryby. V týchž diskusích se ovšem dočteme i opak, a to tvrzení, že mražením se zooplankton a artemie znehodnotí a nemůže být tedy plnohodnotnou náhražkou živého krmení.

Také Browne a kol., (1991) uvádí, že někteří chovatelé mají vyzorováno, že mražené nebo lyofilizované nauplie mohou vést k redukcí růstu a přežití rybích larev pravděpodobně kvůli snížení nutričních hodnot během procesu rozmrazování.

Cílem této práce bylo potvrdit, nebo vyvrátit tvrzení nejen těchto chovatelů, ale i autorů provádějících obdobné pokusy s mraženou potravou.

Adultní artemie je 200x větší a 500x těžší než nově vylíhlé nauplie. Jejich nutriční hodnoty se značně mění během růstu: obsah tuků se snižuje z 20 % až na 10 % hmotnosti sušiny, proteiny se zvyšují ze 40 % až na více než 60 %. Zatímco nauplie jsou chudé na histidin, metionin, fenylalanin a treonin, dospělé artemie jsou bohaté na všechny esenciální aminokyseliny (Sorgeloos, 1980).

Větší využitelnost živých artemií může být dána také jejich pohyblivostí, čímž jsou pro ryby atraktivnější a dostupnější, jak uvádí i Browne a kol., (1991). Hlavní nevýhodou je, že usmrčené nauplie jsou nepohyblivé.

Sorgeloos, (1980) uvádí, že larvy síhů překonávají metamorfózu stejně dobře, když přijímají artemii, která je šokově zmrazena tekutým dusíkem (-196 °C), nebo živou artemii, ale ne když přijímají pomalu zmrazené nauplie, což poukazuje na skutečnost, že esenciální složky jsou ztraceny během mražení a lyofilizací.

Pokusy prováděné v souvislosti se zjišťováním přežití halančíka v závislosti na dietě ukázaly, že nejlépe přežívaly ryby krmené živou artemií. Nejvyšší ztráty byly zapříčiněny poměrně nízkou teplotou během odchovu, ale hlavně náhlým jednorázovým poklesem teploty, kdy díky technickým úpravám v odchovně ryb klesla teplota na hodnotu 14,3 °C. Výsledek se liší od závěrů Ojutika (2008), který zjistil, že larvy *Clarias gariepinus* a *Heteroclaris* přežívají lépe, jsou-li krmeny mraženými dafniemi, ryby krmené živými měly přežití nižší (Ojutika, 2008). Přežití larev *H. longijilis* krmených artemií (živé nebo mražené), *Moina micrura* (živé nebo mražené) a umělou

suchou stravou pro pstruha se významně nelišilo ( $p > 0,05$ ) a bylo v rozmezí od 79 do 92 % a 61 až 73 % pro opakování 1 a 2 (Kerduchen, Legendra, 1994).

V hodnocení růstu se dosažený výsledek shoduje s výsledkem Ojutika, (2008). Ten konstatoval, že larvy *Heteroclarias* a *Clarias gariepinus*, kterým byla předkládána jako potrava živá dafnie, rostly lépe než ryby krmené mraženou dafnií (Ojutika, 2008). Průměrná hmotnost a specifická rychlost růstu ryb krmených živými naupliemi artemiea byly výrazně vyšší než u ryb krmených jinou dietou ( $p < 0,05$ ). Komerční krmivo pro pstruha vedlo k výrazně nižšímu růstu a přežití ve srovnání s ostatní testovanou stravou. I když to vedlo k nižšímu tempu růstu, než u artemie, *Moina micrura*, se ukázala vhodná pro první krmení larev *H. longijilis* (Kerduchen, Legendra, 1994). Ačkoliv síhové *Coregonus lavaretus* rostli dobře na naupliích artemie, tento typ krmení vedl k relativně vyšší mortalitě. To mohlo být způsobeno toxickými látkami, které jsou občas přítomné v cystách artemie. Ve skupinách krmených zmraženým zooplanktonem byla mortalita uspokojivě nižší. Ovšem všechny tři skupiny, živá artemie, mražený zooplankton tříděný i netříděný, rostly stejně dobře (Wieser, Medqesy, 1982)

Experiment ukázal, že živá artemie neobsahuje všechny sledované látky v nejvyšší míře, ale i tak se zdá být jako nejvhodnější, zatímco artemie trvale zamrazená na  $-14\text{ °C}$  se zdá jako nejméně vhodná, avšak bez významných rozdílů oproti ostatním dietám. Z výsledků analýzy sušiny vyplývá, že mražením se část vody vymrazí, nebo odteče s buněčnou šťávou, tím se zvyšuje sušina. Tímto procesem zřejmě dochází rovněž k zahuštění dusíkatých látek.

Jak uvádí Overein, (2001) je zmrazení vysoce použitelná metoda pro skladování potravy po dlouhou dobu. Ovšem při skladování při  $-21\text{ °C}$  až  $-38\text{ °C}$  se zvyšuje obsah volných esenciálních aminokyselin, při hlubokém zamrazení  $-196\text{ °C}$  je tento obsah nižší, a zvyšuje se o obou případech s časem od získání (Overein, 2001). Výsledky rozborů jednotlivých aminokyselin v mém experimentu ukazují, že jejich obsah v živé artemii je v devíti případech na nejnižší úrovni a to u neesenciálních aminokyselin glutaminu, cysteinu, kyseliny aspergilové a tyrosinu, u esenciálních to jsou aminokyseliny arginin, lyzin, phenilalanin a valin, zatímco na nejvyšší pouze ve dvou, a to u neesenciálního alaninu a glycinu, což lze opět vysvětlit vymražením vody a odplavením buněčné šťávy.

V nutričních hodnotách šokově mraženého a pomalu mraženého planktonu není žádný rozdíl při krmení, kdy je plankton přijat rybami během několik vteřin po nakrmení. (Wieser, Medqyesy, 1982). Je velmi pravděpodobné, že neuspokojivá praxe s mraženým planktonem jako krmivem pro ryby je spojená s jeho snížením nutričních hodnot vzhledem k vyplavování. Po jedné hodině téměř jedna třetina původního obsahu celkových aminokyselin zmizela z planktonu a byla zpět v médiu. To je důsledkem zejména vymývání rozpustných proteinů ze zničených buněk. Většina všech volných aminokyselin unikla z planktonu do média během jedné hodiny. Po deseti minutách v 9 °C více než 75 % volných aminokyselin zmizelo z krmení a mohly být rozpuštěné ve vodě (Grabner a kol., 1981). Z výše uvedeného lze usuzovat, že u mraženého krmiva by měl být nižší obsah nejen popelovin a tuků, jako je tomu v mé práci, ale i ostatních výživových látek, jako bílkovin.

Ve své práci uvádí Sorgeloos, (1980) že použil nauplie artemií z několika lokalit - Kanada, San Francisco Bay, Jižní Amerika a Tientsin (Čína) pro larvy ryby ružichy (*Pagrus major*). Po chemických analýzách a krmných testech odhalil vysokou mortalitu ryb a nízký obsah esenciálních mastných kyselin 20 : 5 ω 3 a 22 : 6 ω 3. Nauplie z Kanady, San Franciska Bay, Tientsinu obsahovaly vysoký obsah esenciálních mastných kyselin, zatímco z Jižní Ameriky a z několika vzorků ze San Franciska Bay byl nedostatečný obsah esenciálních mastných kyselin. Lze tedy říci že, nutriční hodnoty artemie jsou rozdílné podle jejího původu, ovšem to nemusí být příliš významné (Sorgeloos, 1980). Lavens a kol., (1995) uvádí, že nauplie artemie nemají dostatečný obsah PUFA a n-3 HUFA, a proto nesplňují nutriční požadavky larev ryb. Ovšem Ostaszewska a kol. (2006) ve své práci uvádí, že dle výsledků její práce zaměřené na porovnání obsahu a složení MK krmivu je jejich obsah jak pro použité komerční krmné směsi, tak pro v nauplie artemie dostatečné. Krmná hodnota artemie je přímo závislá na obsahu a zastoupení jednotlivých MK, zvláště pak n-3 HUFA. Při použití artemie pro chov candáta obecného se ukázal nízký obsah PUFA (26,07 %) a velmi nízký obsah DHA ( pouze 9,89 % z celkového množství MK) (Ostaszewska a kol., 2006). Srovnáním celkových obsahů mastných kyselin v mém experimentu lze usoudit, že se úpravou artemie mražením obsah SFA, PUFA, Σ (n-6), Σ (n-3), Σ (n-3)/(n-6) zvyšuje, což lze přisuzovat vymražení vody, a tím tedy zkoncentrování mastných kyselin. Toto dle výsledků platí pouze pro trvalé zamrazení, při opakovaném zamrazení obsah mastných kyselin oproti trvale zamražené artemii klesá. PUFA mastné kyseliny



procesem mrazením degradují na MUFA, to vede k vyššímu obsahu MUFA u opakovaně zamrazené artemii oproti trvale zamrazené artemii. To je rozdíl oproti jiným mastným kyselinám, kde trvale zamrazená artemie obsahuje vyšší obsah mastných kyselin než artemie opakovaně zamrazená. Snížení obsahu mastných kyselin v opakovaně zamrazených vzorcích je způsobeno degradací mastných kyselin a jejich odplavení spolu s buněčnou šťávou. Obsah MUFA je u živé artemie nejvyšší, což lze vysvětlit degradací MUFA procesem mrazením a odplavením přebytečnou buněčnou šťávou.

V této práci byla tedy potvrzena pouze hypotéza o snížení obsahu některých výživových látek při procesu mrazení, a to pouze tuků a popelovin. Ovšem výsledky mastných kyselin s tímto nekorrespondují. Živá artemie, i když má nejvyšší obsah tuků, má nízký obsah mastných kyselin oproti ostatním dietám. Jako nejvhodnější úprava krmiva z hlediska mastných kyselin se jeví úprava trvalým zamrazením na  $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Výsledky bílkovin a jednotlivých aminokyselin odhalily, že se mražením jejich obsah zvyšuje. Jako nejvíce vhodná úprava krmiva z hlediska obsahu aminokyselin se zdá být jeho zamrazení na  $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ , rozmrazení na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  a opětovné zamrazení na  $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Celkově lze tedy konstatovat, že zjištěné výsledky se ne zcela shodují s výsledky uvedenými v článku „Parmička dvojskvrnná *Bambus bimaculatus*“ od J. Eliáše, (2004), který uvádí že, opakované zmrazení toto krmivo (buchanky) velmi znehodnocuje a který byl do značné míry i inspirací ke zvolení tématu práce.

## 5. ZÁVĚR

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

Sledovány byly čtyři skupiny ryb, které byly krmeny různě ošetřenými dietami (živá artemie, trvale zamrazená artemie na -14 °C, artemie zamrazená na -14 °C, rozmrazená na + 25 °C a opětovně zamrazená na -14 °C a artemie zamrazená na -14 °C, rozmrazená na + 4 °C a opětovně zamrazená na -14 °C). Měření bylo prováděno vždy po dvaceti dnech, mortalita byla sledována v 60 dnech, tedy v polovině délky pokusu, a na konci pokusu, deformace se hodnotily na konci sledovaného období, tedy po 120 dnech trvání.

Bylo zjištěno, že způsob úpravy krmiva ovlivňuje jak růst, tak přežití ryb.

Na konci experimentu se ukázalo, že skupiny ryb krmené živou artemií rostly lépe, ovšem statisticky stejný růst vykazovaly i ryby krmené artemií trvale zamrazenou na -14 °C. Nejméně rostly ryby krmené artemií zamrazenou, rozmrazenou na 4 °C a opět zamrazenou i ryby krmené artemií zamrazenou, rozmrazenou na 25 °C a opět zamrazenou.

Ryby krmené živou artemií měly signifikantně vyšší přežití (prosté i kumulativní), než ryby krmené jinak upravenou artemií.

Žádná z použitých diet nevedla ke vzniku deformací.

Základní analýza artemie odhalila, že artemie živá vykazuje nejvyšší hodnoty v popelovinách a v tucích, zatímco v dusíkatých látkách hodnoty nejnižší, i tak ji lze považovat na základě těchto výsledků za nejvhodnější.

Laboratorní stanovení aminokyselin odhalila, že jako nejvíce vhodná úprava krmiva z hlediska obsahu aminokyselin se zdá být jeho zamrazení na -14 °C, rozmrazení na 25 °C a opětovné zamrazení na -14 °C, a jako nejméně vhodná se jeví artemie bez úpravy, tzn. živá a úprava pouze trvalým zamrazením na -14 °C.

Výsledky rozborů mastných kyselin ukázaly jako nevhodnější úpravu artemie její trvalé zamrazení na -14 °C a jako nejméně vhodnou variantu artemii bez úpravy, tzn. živou.

Závěrem lze tedy konstatovat, že z hlediska nutričních hodnot na úrovni aminokyselin a mastných kyselin je nejméně vhodná artemie živá, ovšem z hlediska základních rozborů se zdá být jako nejvhodnější. Jako její největší přednost oproti ostatním dietám je její pohyb ve vodním sloupci po nakrmení, čímž je pro ryby dostupnější a atraktivnější. To je asi nejdůležitější faktor zapříčiňující nejlepší růst i přežití u ryb krmených právě touto dietou.

Lze tedy konstatovat, že mrazením se artemie po chemické stránce neznehodnotí, spíše se zdá, že naopak, ale ztrácí pohyblivost a tím i atraktivitu pro ryby. Nutno však mít na zřeteli, že ryby byly krmeny ad libitum, tzn. že mohly nedostatek některých živin kompenzovat zvýšeným příjmem,

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Adámek, Z., 1999. Biologie halančíka *Oryzias latipes* a metodika jeho chovu pro toxické testy. In: Dočkal, P., Maszjarová, E., (Eds.), Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. JCU VURH, Soláň, pp. 77-82.
- Adámek, Z., Helešic, J., Maršálek, B., Rulík, M., 2008. Aplikovaná hydrobiologie. VÚRH Ju Vodňany, 316 s.
- Bogut, I., Adámek, Z., Pu, Z., Galovi, D., Bodako, D. 2010, Nutritional value of planktonic cladoceran *Daphnia magna* for common carp (*Cyprinus carpio*) fry feeding, *Ribarstvo*, 68, (1), 1—10
- Browne, R., A.; Sorgeloos, P.; Trotman, C., N. A., 1991. *Artemia biologi*. United States: CRC Press, 374 s.
- Bruggeman, E., Sorgeloos, P., and Vanhaecke, P., 1980. Improvement in the decaptulation technique of *Artemia* cyst, in *The Brine Shrimp Artemia*, Vol. 3, Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., and Jaspers, E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 216.
- Egami, N., 1959. Rekord of the numer of eggs obtained from a single pair of *Oryzias latipes* kept in laboratory aquaria. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. IV.*, 8, 521-538
- Eliáš J., 2004: *Parmička dvojskvrnná „Barbus“ bimaculatus* (Bleeker, 1884). *AT* 48(4): 20-25.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509
- Grabner, M., Wieser, W., Lackner, R., 1981. The suitability of frozen and freeze-dried zooplankton as food for fish larve : a biochemical test program. *Aquaculture*, 26.
- Guimareas, J. I. And Lira do Rego, F., 1987. The use of freese-dried *Artemia* as food for penaeid shrim larvae, in *Artemia Research and Its Applications*, Vol. 3, Sorgeloos, P., Bengtson, D. A., Declair, W., and Jaspers, E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 479.
- Halver, J., Emil, Hardy, R., W., 2003. *Fish nutrition*. 3rd edition. John Emil Halver, Ronald W. Hardy. [s.l.] : [s.n.], s. 417.
- Halver, J. E., 1957, Water soluble vitamin requirement of Chinook salmon, *J. Nutr.* 62.
- Halver, E. J., Shanks W. J., Gahimer G. D., 1962, The Indispensable Amino Acids for Rainbow Trout, *The Progressive Fish-Culturist*, Volume 24, Issue 2.
- Hulan, P., 2010, Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*. 67 s. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.
- Kerduchen, N., Legendra, 1994. M., Larval rearing of an African catfish, *Heterobranchus longifilis*, (Teleostei, Clariidae): a comparison between natural and artificial diet

- Kirchen, R. V., West, W. R., 1969. The Japanese medaka. Care and development. Manuscript, karolina Biological Supply Co. Minneapolis, p. 497.
- Kočí, V., Rakovický, T., Švagr, A., *Vscht.cz* [online]. 2001 [cit. 2010-03-18]. Test akutní toxicity na žábřonůžkách *Artemia salina*. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/dokumenty/Artemia.htm>>.
- Lavens P., Sorgeloos P., Dhert P., Devresse B. (1995) Larval foods. In: Broodstock management and egg and larval quality (Eds.) N.R. Bromage and R.J. Roberts. Blackwell, London
- Lepš, J. (1996). Biostatistika. Jihočeská Univerzita České Budějovice. pp. 166
- Lovell, T., 1998. Proteins and amino acids. In *Nutrition and Feeding of fish*. [s.l.] : [s.n.].
- Mareš, J., [2001]. *Problematika odchovu raných stádií ryb.*, 40 s. Dostupné z: [www.rybarstvi.eu/dok\\_rybari/honza/ranne.pps](http://www.rybarstvi.eu/dok_rybari/honza/ranne.pps)
- Mareš, J., [2000] *Výživa a krmení ryb - úvod* [online]. MZLU v Brně, [cit. 2009-12-16]. Dostupný z WWW: <[http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni\\_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok\\_prednasky/Mare%C5%A1/Vyziva\\_krmeni.pdf](http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok_prednasky/Mare%C5%A1/Vyziva_krmeni.pdf)>.
- Masato, K., Murata, K., Naruse, K., Tanaka, M., 2009. *Medaka: biology, management, and experimental protocols*. ilustrované vydání. USA: John Wiley and Sons, ISBN 0813808715, 9780813808710.
- Medgyesy, N., Wieser, W., 1982. Rearing whitefish (*Coregonus lavaretus*) with frozen zooplankton by means of a new feeding apparatus, *Aquaculture*, Volume 28, Pages 327-337.
- Wieser, W., Medgyesy, N., 1982. Rearing whitefish (*Coregonus lavaretus*) with frozen zooplankton by means of a new feeding apparatus. *Aquaculture*, 28 : 327 – 337.
- Naruse, K., 1996. Classification and phylogeny of fishes of the genus *Oryzias latipes* and its relatives. The fish biology journal *Medaka*, Special issue: Development of Medaka biology in Japan – Part 1., **8**, 1-9.
- Novák, P., 2008. Výživa kavarijních ryb - úvod. *Výživa kavarijních ryb - úvod* [online]. [cit. 2009-12-14]. Dostupný z WWW: <<http://www.megabolid.cz/8-vyziva-kavarijnich-ryb-uvod/>>.
- Novák, P., [online]. [2010] [cit. 2012-3-3]. Dostupný z www: <<http://www.akvarista.cz>>.
- Ojutiku. *Comparative Survival and Growth Rate of Clarias gariepinus and Heteroclaris Hathi fed Live and Frozen Daphnia* [online]. Department of Water Resources, Aquaculture and Fisheries, Federal University of Technology, Minna, Niger State, Nigeria : 2008 [cit. 2008-12-24]. Dostupný z WWW: <<http://www.pjbs.org/pjnonline/fin811.pdf>>.
- Ostaszewska, T., Boruta, A. (2006) : The effect of diet on the fatty acid composition and liver histology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) larvae. *Archives of Polish Fisheries*, 2006, Vol. 14, Fasc. 1
- Overrein, I. *Zooplankton - treat them nice! : What happens to nutritional value of zooplankton during* [online]. SINTEF Fisheries and Aquaculture, N-7465

- Trondheim, Norway: [2001] [cit. 2008-12-24]. Dostupný z WWW: <[http://www.sintef.no/upload/Fiskeri\\_og\\_havbruk/Faktaark/Calanus%20finmarchicus%20as%20feed%20for%20fish%20larvae.pdf](http://www.sintef.no/upload/Fiskeri_og_havbruk/Faktaark/Calanus%20finmarchicus%20as%20feed%20for%20fish%20larvae.pdf)>.
- Rugh, R., Ch., 1962. Experimental embryology techniques and procedures, 2nd edn. Burgess publishing Co, Minneapolis.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J., 1995. Marine ( $n-3$ ) polyunsaturated fatty acids. In: Hamilton, R.J. (Eds.), *Developments in Oils and Fats*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 32–65.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., Tocher, D.J., 1993a. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. In: Lahlou, B., Vitiello, P. (Eds.), *Aquaculture: Fundamental and Applied Research. Coastal and Estuarine Studies 43*, American Geophysical Union, Washington, DC, pp. 103–124.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., Tocher, D.R., 1993b. Docosahexaenoic acid and the development of brain and retina in fish. In: Drevon, C.A., Baksaas, I., Krokan, H.E. (Eds.), *Omega-3 Fatty Acids: Metabolism and Biological Effects*. Birkhäuser, Basel, Switzerland, pp. 139–149.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J. and Tocher, D.R., 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. Symposium of European Inland Fisheries Advisory Commission. *J. Appl. Ichthyol.* 11, pp. 183–198 Full Text via CrossRef
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A. and Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, pp. 117–127 Article,View Record in Scopus | Cited By in Scopus (166)
- Sargent, JR, McEvoy, LA a Bell, JG, 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds . *Aquaculture* 155, pp. 117-127,
- Slanina, P. Žábronožka pohledem akvaristy. In: *Cyperus - spolek pro akvaristiku v Brně*. Brno: Cyperus, 2010.
- Sogeloo, P., Persoone, G., Baeza-Mesa, M., Bossuyt, E., and Bruggeman, E., 1978. The use of Artemia cyst in Aquaculture: the ceocept of hatching efficiency and description of a new method for cyst procesing, in Proc. 9th Annual Meeting World Mariculture Society, Avault, J. W., Jr., Ed., Luisiana State University, Baton Rouge, 715.
- Sorgeloo, P., 1980. The use of thr brine shrimp Artemia in aquaculture. *The Brine Shrimp Artemia*, Vol. 3
- Steffens, W., 1989. Minerals. In LAIRD, L.M. . *Principles of fish nutrition*. [s.l.] : [s.n.]. Minerals. s. 272-273.
- Steffens, W., 1989. Nutritiens : carbohydrates. In *Principles of fish nutrition*. [s.l.] : [s.n.]. s. 155.
- Vanhaecke, P. and Sorgeloo, P., 1982. International Study on Artemia. XVIII. The hatching rate of Artemia cyst – a comparative study, *Aquacult. Eng.* 1, 263.

- Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P., 1983. International Study on Artemia. XIX. Hatching data for ten commercial sources of shrimp cysts and reevaluation of the hatching efficiency concept, *Aquaculture*, 30, 43.
- Vítek, J., Kadlec, J., 2001 Halančici. *Svět křídel*, Cheb, 303 s.
- Yamamoto, T., 1975. Systematics and Zoogeography. In: Yamamoto, T., (Ed.), *Medaka, Biology and Strains*. Ygakusya Publ., Tokyo, pp 17-29.
- Vítejte ve světě artemií* [online]. [cit. 2012-3-3]. Dostupný z WWW: <<http://www.artemiaworld.com/>>.

## **Seznam zkratek:**

AA - kyselina arachidonová

AK - aminokyseliny

DHA - kyselina dokosahexaenová

EPA - eikosapentaenová kyselina

FROV - Fakulta rybářství a ochrany vod

HUFA - vysoce nenasycené (Highly Unsaturated Fatty Acids)

KK – krmný koeficient

MK - mastné kyseliny

MUFA - monoenové mastné kyseliny (Mono Unsaturated Fatty Acids)

NL - dusíkaté látky

PUFA - polyenové mastné kyseliny (Poly Unsaturated Fatty Acids)



## Seznam obrázků, tabulek a grafů

Tabulka č. 1 - Základní chemické složení těla *Daphnia magna* a larev *Chironomus plumosus*

Tabulka č. 2 - Obsah esenciálních aminokyselin v organismu *Daphnia magna* a nutriční požadavky kapra

Tabulka č. 3 - Obsah mastných kyselin u vybraných planktonních druhů

Tabulka č. 4 - Živinové složení artemie.

Tabulka č. 5 - Průměrné hodnoty přežití halančíka rýžovištního krmeného 4 různými dietami

Tabulka č. 6 - Výsledky základní analýzy sušiny, tuku, popolovin a dusíkatých látek v sušině a čestvé hmotě

Tabulka č. 7 - Obsah aminokyselin (v g na kg sušiny vzorků)

Tabulka č. 8 - Obsah mastných kyselin a jejich profil (g/kg vzorku)

Graf č. 1 – Průměrný růst halančíka rýžovištního na základě různé diety

## Souhrn

### **Vliv opakovaného rozmrazení na nutriční účinnost nauplií *Artemia salina* pro raná vývojová stádia ryb.**

Účinnost hluboce zamrazených a opakovaně rozmrazených planktonních organismů není úplně objasněná, často bývá zpochybňována, avšak živinové složení a nutriční účinnost takového krmiva chybí. Cíl práce bylo vyhodnotit nutriční účinnost opakovaně rozmrazených nauplií *Artemia salina* a změny jejich chemického složení na základě růstu, přežití a výskytu případných deformací v průběhu ontogeneze halančíka rýžovištního *Oryzias latipes*. Jako kontrolní dieta byla zvolena živá, čerstvě nalíhlá artemie. Jako sledované skupiny byly zvoleny nauplie artemií trvale zamrazených na - 14 °C, rozmrazených na + 4 °C a opět zamrazených a rozmrazených na + 25 °C a opět zamrazených artemií. Do pokusu byly nasazeny larvy ryb ve věku jednoho týdne po přechodu na vnější výživu. Před zahájením pokusu bylo ve vzorcích artemie stanoveno její živinové složení, a to až na úrovni mastných kyselin a aminokyselin

Po ukončení pokusu bylo zjištěno, že halančík rýžovištní *Oryzias latipes* krměný živou artemií nejenže lépe roste, ale měl i lepší přežití oproti ostatním skupinám ryb. Deformace ryb nebyly zjištěny žádné. Nutriční hodnota živé artemie se zdá být nejvyšší, avšak zamrazení na - 14 °C, rozmrazení na 25 °C a opětovné zamrazení na - 4 °C se zdá být vhodnější z hlediska obsahu aminokyselin a úprava trvalým zamrazením na - 14 °C se zdá být vhodnější z hlediska obsahu mastných kyselin. Příčinou je pravděpodobně skutečnost, že úpravou zamrazením se koncentrace některých živin snižuje vyplavením, zatímco u jiných se zvyšuje zahuštěním.

Klíčová slova: *Oryzias latipes*, *Artemia salina*, nutriční účinnost, mražený zooplankton;

## **The influence of repeated defrosting on nutritional efficiency of *Artemia salina* nauplii for early developmental stages of fish**

Nutritional efficiency of deeply frosted and repeatedly defrosted zooplankton has not been totally clarified, and it is often questioned, however, the nutrients composition and effect of such deteriorated feed are missing. The aim of this study was to assess nutritional efficiency of repeatedly defrosted nauplia *Artemia salina*, as well as changes in their chemical composition on the basis of the growth, survival and presence of the deformations in early ontogeny of Japanese medaka (*Oryzias latipes*).

The samples of fresh hatched artemia nauplii served as a control group. The experiment was carried out with samples of live nauplii, permanently frosted at -14°C, defrosted to 4°C and again frosted and defrosted to 25°C and frosted again. The larvae of medaka in the period of one week after shift to the exogenous nutrition were examined. Before the commencement of the experiment the composition of samples in terms of nutrient, amino acids and fatty acid contents was determined.

The results proved that *Oryzias latipes* fed with live artemia not only grew better but also survived more than other fish in other treatments. No deformations were recorded. Fish fed frozen food survived better than those fed with live Artemia. It was also found that fish fed live Artemia seems to be the highest however from the amino acid point of view it seems to be more appropriate to freeze it to -14°C, defreeze to 25°C and refreezing to -4°C. as for the fatty acids Artemia adjusted by the permanently freezing to -14°C.

The processes of thawing and repeated freezing of artemia nauplii result in leaching of some nutrients but in the thickening of some others.

Key words: *Oryzias latipes*, *Artemia salina*, nutritional efficiency, frozen zooplankton

## **Přílohy:**

### **Seznam příloh:**

Příloha č. 1 – Aparatura k líhnutí artemie

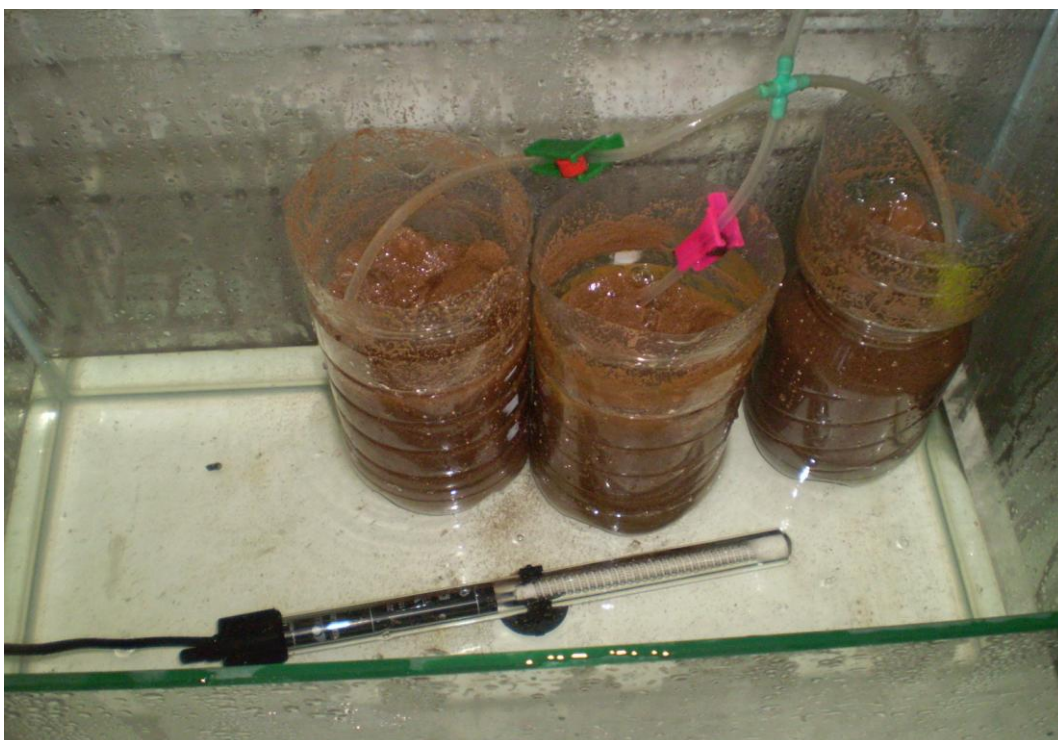
Příloha č. 2 – Odchovná nádrž využívaná k pokusu

Příloha č. 3 – Průběh teploty a obsahu kyslíku v průběhu pokusu probíhajícího v termínu 14. 2. – 14. 6. 2011

Příloha č. 4 Nasycení vody kyslíkem v průběhu pokusu probíhajícího v termínu 14. 2. – 14. 6. 2011

## Příloha č. 1 – Aparatura k líhnutí artemie

vlastní fotodokumentace

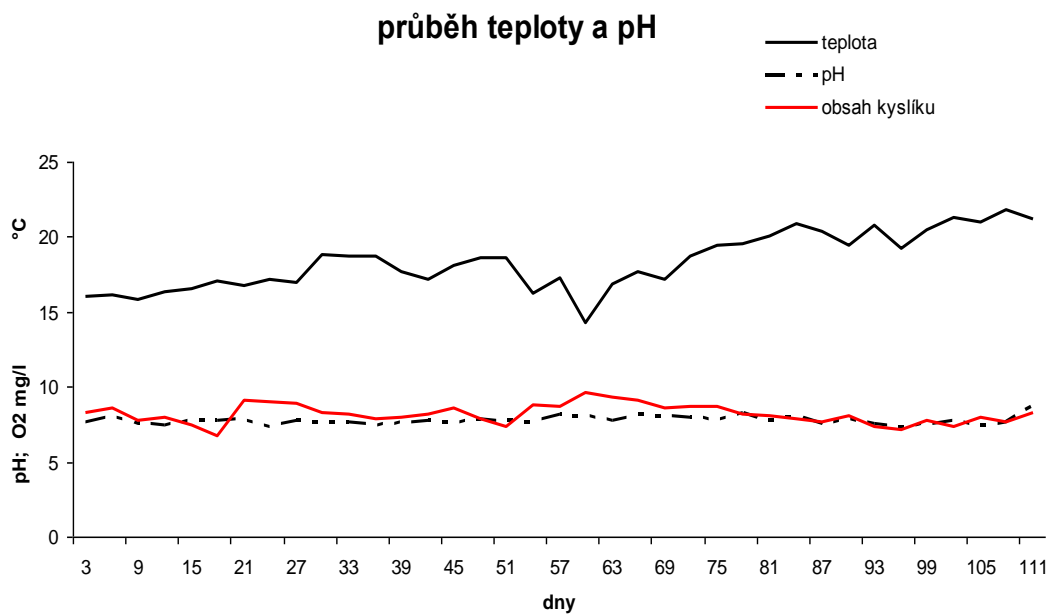


## Příloha č. 2 – Odchovná nádrž využívaná k pokusu

vlastní fotodokumentace



**Příloha č. 3** – Průběh teploty (°C), obsahu kyslíku (mg . l<sup>-1</sup>) a pH v průběhu pokusu probíhajícího v termínu 14. 2. – 14. 6. 2011



**Příloha č. 4** –Nasycenost vody kyslíkem (v %) v průběhu pokusu probíhající v termínu 14. 2. – 14. 6. 2011

