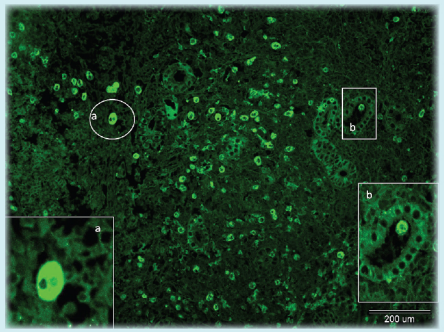
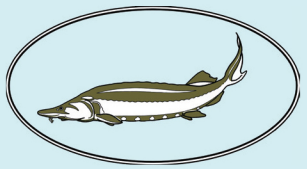
Agronomická fakulta

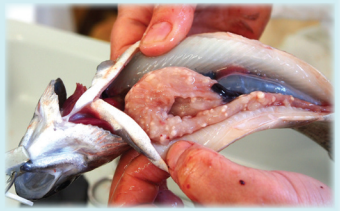
cover design by Štěpán Lang

Mendelova univerzita v Brně

Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péčí v recirkulačním systému







Editoři:
prof. Dr. Ing. Jan Mareš
Ing. Štěpán Lang,Ph.D.
Bc. Martina G. Marešová

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

„Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péčí v recirkulačních systémech“

Sborník příspěvků

Brno 15. 11. 2016

Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství

rybarstvi.eu

Editoři: prof. Dr. Ing. Jan Mareš
Ing. Štěpán Lang, Ph.D.
Bc. Martina G. Marešová

Produkce ryb z různých systémů chovu, tedy z akvakultury, celosvětově pokrývá téměř polovinu veškeré nabídky ryb. Jednou z možností jsou intenzivní metody chovu ryb, které se staly součástí technologie jejich chovu po celém světě. S ohledem na nedostatek kvalitní vody i požadavek na minimalizaci zátěže prostředí z těchto chovů dochází k rozšiřování recirkulačních systémů různého typu. Ty jsou využívány pro různé druhy ryb, jsou různé konstrukce i různé technologie. Jedním z nich je i systém využívající airliftů, zajišťujících pohyb vody a výměnu plynů, který jsme si zvykli označovat jako „systém dánského typu“. Vedle tohoto systému, dochází u nás k budování dalších recirkulačních systémů pro teplomilné i studenomilné druhy ryb. V současnosti však jednoznačně dominuje chov ryb lososovitých.

Workshop je pořádaný pro prezentaci dosavadních zkušeností s využíváním RAS nejen dánského typu se zaměřením na veterinární problematiku a předání zkušeností získaných v posledních letech zejména v rámci řešení projektů NAZV QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“ a QJ1510077 Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace“ i projektů dalších. Seminář zaměřený na uvedené téma je již druhým v pořadí organizovaný na oddělení rybářství a hydrobiologie Mendelovy univerzity v Brně. Zároveň rozšiřuje nepříliš početný soubor akcí realizovaných pro šíření poznatků zabývajících recirkulačními systémy a intenzivními chovy i v oblasti veterinární problematiky. Velký dík na tomto místě patří i těm provozním subjektům, které nemají obavu pustit si do chovu veterinární lékaře.

za organizační tým
Prof. Dr. Ing. Jan Mareš – koordinátor projektů NAZV

Workshop „Zkušenosti s chovem ryb v recirkulačním systému dánského typu“ je jedním z výstupů výzkumného projektu MZe ČR NAZV QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče.“
Sborník byl vydán za finanční podpory uvedeného projektů NAZV QJ1210013 a QJ1510077.

Mendelova univerzita v Brně
ISBN 978-80-7509-441-4

OBSAH

RECIRKULAČNÍ AKVAKULTURNÍ SYSTÉMY, PROJEKTY A PODPORA RAS
Mareš, J. 7

CHOV RYB V RECIRKULAČNÍCH AKVAKULTURNÍCH SYSTÉMECH V ČR
Kouřil, J. 13

VLIV MANAGEMENTU KVALITY VODY NA OŽIVENÍ A FUNKCI BIOLOGICKÉHO FILTRU V RECIRKULAČNÍM SYSTÉMU
Lang, Š., Manga, I. 18

VÝSKYT NEBEZPEČNÝCH NÁKAZ V INTENZIVNÍCH CHOVECH LOSOSOVITÝCH RYB
Pojezdal, L., Jelínková E., Čížek, A., Papežíková, I., Navrátil, S., Veselý, T., Palíková, M. 23

PROLIFERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ LEDVIN PSTRUHA DUHOVÉHO V PODMÍNKÁCH INTENZIVNÍHO CHOVU: PATOGENEZE, DRUHOVÁ VNÍMAVOST, TERAPEUTICKÝ EFEKT NACL
Palíková, M., Papežíková, I., Kováčová, V., Jelínková, E., Marková, Z., Navrátil, S., Vojtek, L., Hyršl, P., Mareš, J. 30

ELIMINACE PŮVODCE ONEMOCNĚNÍ PKD V INTENZIVNÍM CHOVU RYB
Mareš, L., Řezníčková, P., Brumovská, V. 36

VLIV ODLIŠNÝCH KRMIV NA MARKERY OXIDATIVNÍHO STRESU U PSTRUHA DUHOVÉHO (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)
Jánová, K., Mareš, J., Palíková, M., Papežíková, I., Bláhová, L. 41

VLIV KRMNÉ STRATEGIE A SYSTÉMU CHOVU NA KVALITU MASA LOSOSOVITÝCH RYB
Mareš, J., Poštulková, E., Vlasák, J. 47

MOHOU MYKOTOXINY OBSAŽENÉ V KRMNÝCH SMĚSÍCH PRO LOSOSOVITÉ DRUHY RYB OVLIVNIT ZDRAVOTNÍ STAV RYB V AKVAKULTUŘE?
Modrá, H., Mareš, J., Svobodová, Z., Plhalová, L., Tkáč, M. 52

ZKUŠENOSTI S APLIKACÍ AUTOGENNÍ VAKCÍNY V INTENZIVNÍM CHOVU LOSOSOVITÝCH RYB
Papežíková, I., Vojtek, K., Hyršl, P., Veselý, T., Reschová, S., Poštulková, E., Mareš, J., Navrátil, S., Palíková, M. 57

ZDROJOVÝ MATERIÁL PRO PRODUKCI LOSOSOVITÝCH RYB V ČR – MINULOST A SOUČASNOST
Mendel, J. 62

MORFOLOGICKÉ ROZDÍLY V RÁMCI CHOVANÝCH SKUPIN LOSOSOVITÝCH RYB
Halačka, K. 66

KONTROLOVANÝ CHOV – PŘÍNOS GENETIKY PRO ÚČELY CHOVU LOSOSOVITÝCH RYB
Mendel, J., 71

VLIV TEPLOTY A TVARU NÁDRŽÍ NA RŮST, PŘEŽITÍ A FREKVENCI VÝSKYTU DEFORMIT ČELISTÍ U LAREV SÍHA PELEDĚ (COREGONUS PELED GMELIN, 1788)
Šebesta, R., Stejskal, V., Prokešová, M., Novikava, K., Vanina, T. 76

VLIV TEPLOTY VODY A KONCENTRACE KYSLÍKU NA VÝSLEDKY CHOVU SÍHA PELEDĚ V INTENZIVNÍ AKVAKULTUŘE
Matousek, J., Prokesova, M., Novikava, K., Sebesta, R., Zuskova, E., Kouril, J., Stejskal, V. 85

FREKVENCE VÝSKYTU DEFORMIT A MORFOMETRIKÁ CHARAKTERISTIKA SÍHA PELEDĚ *COREGONUS PELED* (GMELIN) ODCHOVANÉHO V PODMÍNKÁCH INTENZIVNÍHO A EXTENSIVNÍHO CHOVU
Stejskal, V., Matoušek, J., Šebesta, R., Vanina, T., Prokešová, M., Podhorec, P. 95

RECIRKULAČNÍ AKVAKULTURNÍ SYSTÉMY, PROJEKTY A PODPORA RAS

Jan Mareš

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

Recirkulační akvakulturní systémy (RAS) jsou jeden z nejsofistikovanějších produkčních systémů chovu ryb moderní doby. Jejich součástí je vedle chovných nádrží i sekce na čistění vody (mechanické a biologické filtry), zařízení pro optimalizaci podmínek prostředí (teplota, obsah rozpuštěného kyslíku, hodnota pH etc.) a desinfekce vody (UV lampy, ozón). Hlavními přednostmi RAS jsou minimální závislost na zdroji vody, celoroční produkce ryb a minimalizace dopadu intenzivního chovu ryb na okolní přírodu a vodní prostředí. Předností je samozřejmě více v závislosti na jejich konstrukci a druhu chovaných ryb. Jsou považovány za jeden z adaptačních mechanismů chovu ryb na nevyrovnané hydrologické poměry v průběhu probíhajících klimatických změn. Na druhou stranu jsou přednosti vyváženy řadou nevýhod. První z nich je vysoká investiční náročnost, na kterou navazují poměrně vysoké provozní náklady spojené zejména se zajištěním pohybu vody, saturací vody kyslíkem, odstranění zatížení vody chovem ryb, udržování optimálního prostředí pro chov ryb a činnost biofiltrů a udržování prostředí bez výskytu původců onemocnění. Tedy náklady na energii spolu se zajištěním obsluhy, kvalitního násadového materiálu a vhodného krmiva. Pro ekonomicky efektivní provoz je zapotřebí vysoká produkce dobře zpeněžitelných ryb příznivé nutriční hodnoty, minimum zdravotních problémů a vybalancování jednotlivých vstupů. Z uvedených důvodů je zapotřebí věnoval značnou pozornost technickému řešení budovaných systémů, včetně precizně provedené práci, zvolit vhodný druh chované ryby, zajistit bezpečný zdroj násadového materiálu a zodpovědný personál. A k těmto požadavkům bych dodal – využít dotace na vybudování takových systémů a spolupracovat se subjekty, které mají zkušenosti s provozem těchto systémů nebo se podílejí na jejich vývoji a optimalizaci provozu. A to včetně výzkumných projektů, které přinášejí nové poznatky, informace a zkušenosti. Taková spolupráce přináší náskok ve zkušenostech a v řadě případů i posun v technologii i vybavení systémů. Výzkum však nepřináší vždy okamžitý úspěch a vyžaduje trpělivost. Zásada, kterou vštěpujeme i studentům, je minimalizace negativního dopadu výzkumu na život ryb. Jaké množství ryb zaplatilo svým životem za historicky dlouhý vývoj jejich chovu lze jen těžko odhadnout. Ne hned se všechno podaří.

Z uvedených důvodů jsou vypisovány výzkumné projekty a dotační tituly, aby ekonomické dopady výzkumu neležely jen na bedrech chovatelů. A to je skutečností i v otázce budování RAS a dalších systémů intenzivního i extenzivního chovu ryb respektujících minimalizaci ekologické zátěže po celém světě.

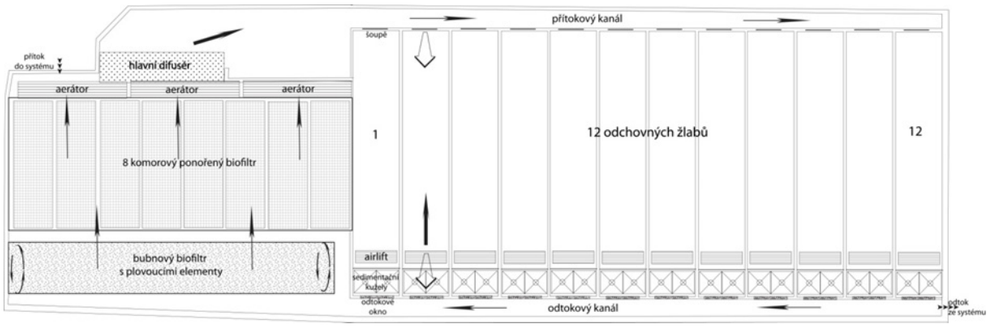
Intenzivní chov ryb je realizován a rozvíjen v průběhu posledního století, recirkulační systémy pak poslední půlstoletí. Od experimentálních „modelů“, přes jednoduché systémy s malým zatížení využívané pro zimní odchov reofilních ryb nebo ryb dekoračních, až po systémy dosahujících produkce v řádu stovek kilogramů z jednoho metru krychlového ročně. Využití RAS je v České republice velmi diversifikované. Jedná se o produkci importovaných teplomilných druhů (tilapie nebo clarias) využívající oteplenou vodu, systémy produkující v kontrolovaných podmínkách tradiční cenné druhy ryb (např. candát, sumec nebo jeseteři), případně kombinované technologie chovu, využívající výhod těchto systémů v klimaticky nepříznivých obdobích roku nebo

k počátečnímu odchovu ryb vysazovaných do přirozených podmínek. Dominantní postavení mají však ryby tradičně produkované intenzivním způsobem, a to ryby lososovité. Od pstruha duhového, přes různé druhy sivenů včetně mezidruhových hybridů až po začínající chov lososa. V našich podmínkách se v současnosti jedná zejména o pstruha duhového s roční produkcí 400–600 tun a sivena amerického 230–360 tun (Situační a výhledová zpráva Ryby. MZe 2015). Celkově tedy významně nepřevyšující 800 tun. Velká část lososovitých ryb konzumovaných v našich zemích pochází z importu z různých zemí, často ve velmi rozdílné kvalitě.

Vzhledem k omezenému množství zdrojů kvalitní vody pro chov lososovitých ryb v průtočných systémech, včetně nevyrovnaného množství vody v průběhu roku, zdravotním rizikům a snaze o snížení dopadu jejich provozu na recipienty, došlo v posledních deseti letech k výstavbě několika recirkulačních systémů pro chov ryb. Několik z nich jsou RAS tzv. dánského typu (obr.1). Jedná se o horizontální recirkulační systémy vyvinuté v Dánsku využívající velké množství vzduchu vháněného na různá místa recirkulace, zajišťující pohyb vody a výměnu plynů, pohyb elementů v plovoucí části biofitru. Dmychadly hnaný vzduch je potrubím rozváděn do několika typů airliftů rozmístěných v systému. Základem pohybu vody je hluboký airlift, zajištující pohyb vody v systému, tedy od biofiltru do chovných nádrží a zpět do filtru. Pohyb vody v chovných žlabech zajišťuje nízkotlaký airlift, umístěný ve žlabu naproti přítoku. Další perforované potrubí přivádí vzduch do plovoucího biofitru. Za ponořeným biofitrem umístěný rošt zajišťuje odplynění vody po průchodu filtrací. Vzduch vháněný do potrubí s většími otvory v ponoření části biofiltru zajišťuje podle potřeby jeho čištění. V ČR byly vybudovány tři tyto systémy. Vzhledem ke skutečnosti, že byly vyvinuty pro jiné klimatické podmínky, dochází v těchto RAS v průběhu roku ke změně podmínek, s tím souvisejícím kolísání příjmu potravy, intenzity růstu ryb, jejich produkce i činnosti biofiltru. Přestože jsou vybudovány ve vyšších nadmořských výškách, dochází zde v letních měsících ke zvýšení teploty nad optimální hodnotu pro chov lososovitých ryb, v zimním období pak významnému poklesu teploty až zamrzání. Optimalizace teplotních podmínek je možná vybudováním zastřešení systému nebo eliminací teplotních extrémů zakrytím systému a využitím podzemní vody k doplňování systému. Zařazení nízkotlakých difuzérů je využíváno jako samostatný prvek u řady jiných systémů.

Jiným systémem je vybudování recirkulačních systémů v halách s řízeným teplotním režimem, s možností chovu ryb s rozdílnými teplotními nároky, využívající systému tepelných výměníků pro optimalizaci teplotních podmínek jednotlivých okruhů. Obecně platí, že menším problémem je zvýšení teploty ve srovnání s potřebou jejího ochlazení.

Obr. 1. Schéma konkrétního řešení recirkulačního systému dánské technologie na rybí farmě v Pravíkově (Vítek a kol. 2011)



Společným prvkem různých RAS je vedle optimalizace jejich technického řešení a technologie chovu jednotlivých druhů ryb, zvládnutí péče o biofitry jako základního prvku fungování RAS, zajištění kvalitního a bezpečného násadového materiálu a vyřešení zdravotní problematiky chovu ryb. Preventivní a léčebné zásahy významně ovlivňují činnosti biofitru a je tedy nezbytné zvládnout prevenci zavlečení původců onemocnění do systému a jejich efektivní eliminaci bez negativního dopadu na funkci biofiltru. Samostatná pozornost je věnována kvalitě a úpravě vody využívané pro doplňování RAS. To jsou témata aktuálně řešená v řadě výzkumných projektů.

Výzkumné projekty s obsahem řešící i problematiku RAS na experimentální nebo poloprovozní úrovni byly zadávány již řadu let. Pro informaci jsou prezentovány některé z nich.

Biologické a ekologické aspekty intenzivního odchovu plůdku jeseterů v podmínkách ČR. (GAČR 1994–1996).

Biologické a technologické aspekty chovu sumce velkého (Silurus glanis) v podmínkách ČR. (NAZV 1995–1997).

Technologie produkce tržního okouna (NAZV 1999 –2001).

Inovace a vypracování norem potřeby živin pro hospodářská zvířata a ryby (NAZV 2000-2004).

Vývoj nových technologií odchovu hospodářsky významných říčních druhů ryb a raků ohrožených degradací přírodního prostředí. (NAZV 2003-2007).

Produkce násad candáta obecného při využití metody kombinovaného chovu (2005).

Rozvoj produkce ryb s využitím technických akvakultur a jejich kombinace s rybničními chovy (NAZV 2004-2007).

Vývoj nových metod chovu vybraných perspektivních akvakulturních druhů s využitím netradičních technologií (NAZV 2007-2011).

Výčet samozřejmě není úplný, vychází z projektů řešených na brněnském pracovišti a má jen dokumentovat, že problematika chovu ryb s využitím RAS není nová.

Projekty udělené MZe ČR v posledních letech přímo zaměřené na řešení problematiky chovu ryb v recirkulačních akvakulturních systémech:

Optimalizace podmínek intenzivního chovu lososovitých ryb v podmínkách České republiky s využitím dánské technologie se zaměřením na kvalitu produkovaných ryb. (QI91C001, NAZV 2009-2013).

Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče. (QJ1210013, NAZV 2012-2016).

Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace. (QJ1510077, NAZV 2015-2018).

Na řešení projektů se podílí vždy univerzitní vědecká pracoviště (MENDELU, JU, VFU, UBO AV ČR v.v.i.) v týmu s provozními subjekty (BioFish s.r.o., Pstruhařství Mlýny, Rybářství Litomyšl, s.r.o) a ve spolupráci s dalšími provozními subjekty. Tuto spolupráci považuji za velmi významný prvek přenosu zkušeností a poznatků přímo k chovatelům. Dále pak organizaci odborných akcí zaměřených na předávání informací chovatelským subjektům, včetně osobního kontaktu, jako je i tento seminář.

Další podpora budování recirkulačních akvakulturních systémů na národní úrovni vychází ze společné rybářské politiky EU a nařízení o Evropském námořním a rybářském fondu pro roky 2014-2020. Pro uvedené období má společná evropská politika hospodařit s rozpočtem 6,5 miliardy EUR. V březnu 2014 schválila vláda ČR materiál

s názvem „Víceletý národní strategický plán pro akvakulturu na období 2014–2024“. V současnosti jsme ve druhém programovacím období společné rybářské politiky, tj. OP Rybářství 2014-2020. Další informace na http://eagri.cz/public/web/mze/dotace/operacni-program-rybarstvi-na-obdobi-1/.

OP Rybářství programovací období 2014-2020 je zaměřeno na téma „Udržitelná a konkurenceschopná akvakultura založená na inovacích, konkurenceschopnosti, znalostech a účinnějším využití zdrojů, rozvoj udržitelného chovu ryb v České republice a zajištění rovnoměrných dodávek sladkovodních ryb během roku na domácí trh včetně rozvoje mimoprodukčních funkcí rybníků“.

Produkční rybářství spadá do Priority Unie 2: „Podpora environmentálně udržitelné, inovativní a konkurenceschopné akvakultury založené na znalostech a účinně využívající zdroje“.

Samotné intenzivní chovy jsou podporovány v rámci Opatření 2.4 „Recirkulační zařízení a průtočné systémy s dočišťováním“.

Opatření přispívá ke specifickému cíli podporou investic do recirkulačních zařízení a průtočných systémů (včetně líhní) s dočišťováním. Investice budou směřovány do modernizace stávajících či nových zařízení pro produkci ryb šetrných k životnímu prostředí a podporujících snižování negativních vlivů na životní prostředí a zvyšování účinnosti využívání zdrojů.

Pro podporu budování RAS je možné využít 50% dotaci na pokrytí uznatelných nákladů na technologie RAS a 10% dotaci na stavby. Finanční prostředky alokované na podporu tohoto opatření se pohybují významně nad hranicí sto milionů korun. Odhadovaná produkce z RAS v roce 2013 byla na úrovni 100 tun ročně, cílová hodnota programovacího období je plánována na úrovni 1.100 tun v roce 2024. Celková produkce ze systémů intenzivního chovu by měla narůstat ze současných zhruba 800 t o 0,75–2,4 % ročně. Varianta vycházející z odhadu OECD-FAO na úrovni nárůstu 2,4% ročně je v ČR považována za „velmi optimistickou variantu vývoje“. Cílová hodnota je tak zpracována ve třech, resp ve dvou reálných variantách předpokládající nárůst o 1.300 t resp. 3.300 t.

Žádosti byly podávány zatím v rámci 1. výzvy v roce 2015 a v rámci 5. výzvy v říjnu 2016. Další výzvy budou následovat podle harmonogramu schvalovaného Monitorovacím výborem OP.

Další prostředky lze čerpat Opatření 2.2. „Produktivní investice do akvakultury“ a u začínajících podnikatelů i z Opatření 2.3. „Podpora nových chovatelů“.

Žádosti jsou podávány standardním způsobem přes SZIF v aplikaci Portál farmáře.

Jak je zřejmé z předcházejícího textu, podpora chovu ryb v řízených podmínkách, jako oblast produkce doplňující stávající tradiční rybníkářství, má evropskou i národní podporu vycházející jak z dotačních titulů OP Rybářství, tak i z podpory zejména Národní agentury pro zemědělský výzkum, a to ve formě vypisovaných výzkumných projektů směřujících k optimalizaci intenzivního chovu ryb včetně recirkulačních akvakulturních systémů.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“

Doporučená literatura

BUŘIČ, M., KOUŘIL, J. (2011): Technologie chovu ryb v recirkulačním systému dánského typu v podmínkách ČR. Edice Metodik (technologická řada) č. 115, VÚRH JU Vodňany, 42 p.

KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J., 2014: Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech ryb. Uplatněná certifikovaná metodika, Č. R06/2013 R06/2014-16230/Nmet — CERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 18.3.2014, Mendelova univerzita v Brně, 38 s.

KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J., STEJSKAL, V. (2008). Recirkulační akvakulturní systémy pro chov ryb. Edice Metodik (technologická řada) č. 87, VÚRH JU Vodňany, 40 p.

KOUŘIL, J., MAREŠ, J., POKORNÝ, J., ADÁMEK, Z., RANDÁK T., KOLÁŘOVÁ, J., PALÍKOVÁ, M. (2008). Chov lososovitých druhů ryb, lipana a síhů. Vyd. 1. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, 2008, 141 s. ISBN 978-80-85887-80-8.

LANG Š., KOPP R., MAREŠ J., 2015: Metodika záběhu biologického filtru v intenzivním recirkulačním zařízení dánského typu pro chov ryb. Uplatněná certifikovaná metodika, č. R10/2015 66951/2015-16230/NmetCERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 10. 12. 2015, Mendelova univerzita v Brně, 21 s.

LANG Š., KOPP R., MAREŠ J., 2015: Ověřená technologie ovlivnění záběhu biologického filtru v intenzivním recirkulačním zařízení dánského typu pro chov ryb. R12/2015 OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE, Mendelova univerzita v Brně, 25 s.

LANG, Š., KOPP, R., BRABEC, T., VÍTEK, T., MAREŠ, J. 2011. Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému dánského typu. OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE, Mendelova univerzita v Brně, 25 s.

MAREŠ, J., KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., 2012: Optimalizace obsádky a krmení ryb v recirkulačním systému dánského typu. Uplatněná certifikovaná metodika, Č. R05/2012 4576/2013-16230/Nmet — CERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 12. 2. 2013, Mendelova univerzita v Brně, 21 s.

MAREŠ, J., LANG, Š., (eds.) (2013): Zkušenosti s chovem ryb v recirkulačním systému dánského typu. Sborník příspěvků, workshop 12. 12. 2013 Brno, 96 s.

MAREŠ, J., LANG, Š., KOPP, R., BRABEC, T., PFAU, R., 2014: Technologie chovu lososovitých ryb v recirkulačním systému dánského typu. OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE, R08/2013, Mendelova univerzita v Brně, 25 s.

PALÍKOVÁ, M., NAVRÁTIL, S., MAREŠ, J., 2014: Preventivní, profylaktické a léčebné zásahy na snížení rizika výskytu a propuknutí onemocnění v recirkulačních systémech dánského typu. Uplatněná certifikovaná metodika, č. R09/2014-16230/NmetCERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 23. 12. 2014, Mendelova univerzita v Brně, 24 s.

VELÍŠEK, J., KOUBA, A., DVOŘÁKOVÁ, Z. (eds.) (2015): Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství. Sborník příspěvků z odborného semináře, Vodňany 1. a 2. září 2015, 105 s.

VÍTEK, T., KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J. (2011): Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu. Certifikovaná metodika R01/15VD46246/2011-16230, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 20 s.

Výstupy z projektů dostupné na http://rybarstvi.eu/prezentace.html

CHOV RYB V RECIRKULAČNÍCH AKVAKULTURNÍCH SYSTÉMECH V ČR

Kouřil, J.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav akvakultury a ochrany vod, Husova třída 458/102, 370 05 České Budějovice

Recirkulační akvakulturní systémy (dále RAS) představují významnou a kvalitativně zásadní změnu technologie v chovech ryb. Tyto systémy se vyznačují vysokou produkcí z jednotky plochy, výrazně nízkými požadavky na zdroj přítokové vody a velmi omezenou (teoreticky nulovou) produkci vypouštěného znečištění. Krmení chovaných ryb je nutno zabezpečovat zcela výlučně kompletními krmivy z vnějšího prostředí (vyjma specifického systému bioflock), při respektování nutričních potřeb jednotlivých druhů, resp. věkových (velikostních) kategorií, s přihlédnutím k požadavkům RAS (zejména s ohledem na okolnost, že krmiva by sama neměla příliš znečišťovat vodu např. vyšším obsahem prachu apod.).

Čištění vody v RAS zahrnuje odstraňování nerozpuštěných látek (exkrementů, případně zbytků krmiv a uvolněných bakteriálních nárostů) pomocí různých způsobů sedimentace nebo mechanické filtrace, či jejich kombinace, případně doplněné flotací. Vlivem metabolismu ryb ve vodě obsažený toxický amoniak je následně v biologických filtrech různé konstrukce pomocí nitrifikačních baktérií oxidován na dusičnany. Nitrifikace je dvoustupňový proces, probíhající zpravidla v ponořených nebo zkrápěných biologických filtrech (nebo biologických filtrech i jiné konstrukce), při kterém je přítomný amoniak nejdříve přeměňován na dusitany, a bezprostředně poté, jsou dusitany dále oxidovány na dusičnany. Jednou z podmínek úspěšné nitrifikace je dostatečná minimální koncentrace ve vodě rozpuštěného kyslíku. Obě fáze obvykle následují těsně za sebou, proto se v normálně fungujícím systému ve vodním prostředí zpravidla nehromadí dusitany (výjimkou mohou být nově zapracovávané biologické filtry). V biologických filtrech se obvykle vyskytují současně i další mikroorganismy (heterotrofní bakterie a prvoci), které metabolizují přítomné organické sloučeniny. Je žádoucí, aby voda přitékající do biologických filtrů obsahovala co nejnižší koncentrace nerozpuštěných látek. V opačném případě rostou heterotrofní bakterie výrazně rychleji než nitrifikační bakterie a převládají v konkurenčním boji o prostor a kyslík. Některé nové RAS jsou vybavovány i denitrifikační jednotkou. Proces denitrifikace probíhá naopak v anoxickém prostředí. Dusičnany nebo amoniak jsou zde přeměňovány na inertní plynný dusík unikající do atmosféry. Podmínkou denitrifikace je rovněž přítomnost z vnějšího prostředí cíleně přesně dávkovaného organického uhlíku (např. metylalkohol).

Následná úprava vody zpravidla zahrnuje odplynění (zejména snížení obsahu ve vodě rozpuštěného oxidu uhličitého, případně dusíku), úpravu pH, zvýšení obsahu ve vodě rozpuštěného kyslíku (pomocí aerace či oxigenace), případně též desinfekci vody (pomocí ozonizace nebo UV záření) a úpravu teploty vody (ohřev). Na rozdíl od průtočných systémů s ohřevem vody, dochází u RAS k výraznému snížení potřeby kapacity tepelného zdroje (a tedy i nákladů na ohřev ve srovnání s průtočnými systémy). K ohřevu vody lze využít plynných, kapalných nebo tuhých paliv či elektrické energie, tepelných čerpadel, solárních systémů, bioplynových stanic, chladící vody z průmyslových podniků a energetiky, termální vodu aj., resp. různých kombinací těchto způsobů.

Cirkulace vody v systému je zabezpečována čerpáním pomocí klasických

vodních čerpadel různé konstrukce. Do systému se doplňuje zpravidla 1–5 % nové vody z celkového objemu průtoku vody systémem, tzn., že voda je využita mnohonásobně (v uvedeném rozpětí stokrát, resp. dvacetkrát). Přítok vody slouží k doplňování odparu, náhradě technologických ztrát vody (odkalení chovných nádrží, sedimentačních zařízení, mechanických a biologických filtrů aj.), případně je využíván k nařeďování obsahu dusičnanů (pokud není součástí systému denitrifikační jednotka). Zdroj doplňkové vody musí být spolehlivý, především z hygienického hlediska. Nejvhodnější je použití podzemní vody, případně dešťové vody. Experimentální a malé chovatelské systémy mohou využívat i vodu z vodovodní sítě. Použití povrchové vody je, především z hygienických důvodů, nevhodné. Nedílnou součástí RAS jsou různě sofistikované systémy měření, regulace a řízení provozu a signalizace mezních hodnot a stavů (včetně využití dálkového přenosu dat, případně u pokročilých zařízení s možností dálkové vizuální kontroly a možnosti ovládání některých prvků systému). Konstrukce recirkulačních systémů se orientuje různými směry, zejména s cílem zvýšení provozní spolehlivosti a snížení energetických vstupů pro provoz RAS. Jednou z variant jsou horizontálně uspořádaná zařízení s malými rozdíly hladin v jednotlivých součástech celého systému. Na rozdíl od vertikálních systémů (vyznačujících se, několika úrovněmi hladin nad sebou), umožňují horizontální systémy minimalizovat požadavky na čerpání vody klasickými vodními čerpadly a jejich náhradu tzv. airlifty (s použitím buď tlakového vzduchu, nebo kyslíku). Tím je současně částečně řešena i potřeba dodávky kyslíku do vodního prostředí pro ryby i biologické filtry. Specifickou formou horizontálních RAS jsou tzv. dánské RAS, kombinující uvedený systém cirkulace vody mezi chovatelskou částí a částí pro čištění a úpravu vody s aerací a protisměrným pohybem vody ve dvou vrstvách nad sebou přímo v odchovných nádržích, umožňující sedimentaci a současnou eliminaci rybích exkrementů z vodního prostředí přímo v nádržích.

Zvláštní formou RAS jsou akvaponické systémy, u níž se využívá v cirkulující vodě se vyskytujících živin produkovaných chovanými rybami k výživě kultivovaných rostlin. Tato technologie spojuje produkci vodních ryb (případně jiných vodních živočichů) s pěstováním rostlin. Jde v podstatě o propojení intenzivní akvakultury a hydroponie. Každý z těchto dvou systémů, provozovaný samostatně, má své nedostatky, avšak jejich vzájemným spojením se tyto problémy do značné míry eliminují. Jestliže se klasické RAS musí vypořádávat s kontinuálním odstraňováním nadbytečných živin ze systému pomocí filtrace, sedimentace, nitrifikace, denitrifikace a částečné výměny vody v systému (aby došlo k udržení odpovídající kvality prostředí pro chované ryby), hydroponický systém naopak potřebuje, odpovídající množství živin k růstu vybraných plodin. Rostliny využívají živiny obsažené ve vodě jako stavební látku pro tvorbu nové biomasy a současně jejich kořenové systémy poskytují substrát pro uchycení nitrifikačních bakterií. Tyto bakterie pak transformují rybami vyloučený amoniak na dusičnany, jež jsou následně využívány rostlinami. Voda cirkuluje mezi nádržemi s chovem ryb a částí systému, kde jsou kultivovány rostliny. Takovýto vysoce produktivní systém vytváří ideální podmínky pro pěstování rostlin (nejčastěji jsou pěstovány rajče, okurka, paprika, listový salát a bazalka). Akvaponické systémy využívající k eliminaci znečištění produkovaného rybami tropické dřeviny a keře jsou označovány termínem tropenhaus (jsou provozovány zejména ve Švýcarsku a Německu). Mimo současného využití různých zdrojů tepla a komerčního využití produktů (ryby, plody a jiné části rostlin) mají též edukačně ekologické zaměření. Další možnost intenzivního chovu ryb představuje systém bioflock. Jeho podstatou je chov ryb v nádrži s paralelní kultivací

biomasy heterotrofních bakterií, které konzumují v odchovném systému vznikající odpadní látky a přeměňují v nich obsažený dusík na bílkoviny. Vločky agregovaných baktérií zabezpečují čištění vody a zároveň se podílí na snížení krmných nákladů, neboť částečně slouží rybám za potravu (zatím ověřeno zejména v chovu tilapie).

RAS splňují ekologické požadavky související s nepříznivým vlivem intenzivní akvakultury (zejména farem s průtočným režimem vody) na kvalitu vody, ale i požadavky na vyšší hygienické zabezpečení chovů, nedostatkem kvalitních zdrojů přítokové vody a rozšiřující se vliv rybích predátorů. V neposlední řadě lze mezi důvody rozvoje RAS zařadit lepší možnost rozšiřování druhové pestrosti produkce ryb a omezení klimatických vlivů na produkci násadového materiálu. RAS se tak stávají významným doplňkem stávající konvenční akvakultury, využívající k produkci ryb rybníky a průtočné (případně klecové) systémy. RAS mohou významně přispět k naplnění klíčového požadavku obchodních řetězců a zajistit rovnoměrnější celoroční dodávky tržních ryb v požadovaném sortimentu. Nezastupitelné místo mají RAS v akvakulturním výzkumu nejrůznějšího zaměření. Technologie RAS jsou využívány i v chovu okrasných druhů ryb a ve výstavních akváriích, včetně mořských. RAS jsou díky své nezávislosti na okolním prostředí použitelné takřka ve všech klimatických podmínkách. Nevýhodou RAS je investiční nákladnost, technická komplikovanost, vysoké požadavky na kvalifikaci a spolehlivost personálu, spolehlivost dodávky elektrické energie a v některých případech vyšší provozní náklady. Nejvýznamnější rozvoj a využití recirkulačních akvakulturních systémů je v USA, Izraeli, Holandsku a Dánsku. V současnosti jsou RAS rozšířeny v mnoha zemích světa, zejména v Evropě a v Severní Americe, především pro lososovité druhy ryb, dravé ryby a některé druhy mořských ryb, a to jak k produkci násadového materiálu (pro vlastní nebo jiné farmy, včetně konvenčních), tak k produkci tržních ryb (samostatně, nebo v uzavřeném cyklu).

V ČR byl téměř dvě desítky let provozován menší, právě zrušený objekt s chovem sumce a úhoře v RAS ve Velké Bystřici u Olomouce. Přibližně v roce 2005 byl zrušen asi 5 let provozovaný RAS s chovem sumce a později sumečka afrického v Jeseníku na severní Moravě. V roce 2009 byly vybudovány dva horizontální RAS dánského typu (v Mlýnech u Vimperka a v Pravíkově u Kamenice nad Lipou) zaměřené na chov lososovitých ryb. Prvně uvedený byl později zastřešen a doplněn menšími RAS pro odchov násadového materiálu. Rovněž druhý objekt byl doplněn o dvě menší RAS jednotky. Na konci roku 2012 byla dokončena výstavba RAS dánského typu ve Žďáru nad Sázavou s původním předpokladem zahájení produkce síhů, v současnosti je využíván k produkci pstruha duhového. Již několik let je úspěšně provozován RAS kombinující dánský princip čištění vody s kořenovou čistírnou v Bušanovicích u Prachatic, využívaný k chovu pstruha duhového. Další horizontální RAS s využitím prvků dánské technologie jsou vybudovány na několika místech v ČR (Broumov, Hynčice, Skalní Mlýn u Blanska), adaptací původních průtočných pstruhových rybníků, resp. nádrží. V roce 2010 byl vybudován a sezónně v omezeném rozsahu k odchovu raného plůdku kaprovitých ryb z časných jarních výtěrů využíván samostatný vertikální RAS, instalovaný v hale rybí farmy v Tisové u Sokolova (v současnosti je mimo provoz). Menší recirkulační systémy pro chov různých druhů ryb jsou již více než deset let provozovány Rybářstvím Pohořelice ve Velkém Dvoře. Od roku 2010 byl provozován první vertikální RAS v ČR využívající teplo z bioplynové stanice zaměřený na produkci tržního sumce v Klopině u Šumperka (v současnosti mimo provoz). Největší současná farma v ČR, využívající vertikální recirkulační technologie s řadou postupně budovaných a následně vylepšovaných samostatných

RAS existuje od roku 2012 v Rokytnu u Pardubic. Farma je zaměřena na tržní produkci několika druhů ryb (dominuje sumeček africký, dále je chován sumec, jeseteři, úhoř, candát, lososovité ryby). Od roku 2013 je v provozu několik samostatných vertikálních RAS vlastní konstrukce švýcarské firmy Anapartners v Praze Horních Počernicích (se zaměřením na produkci sumce, okouna a candáta). Počínaje rokem 2013 je v provozu propagační vertikální RAS firmy Agrico v Třeboni (využívaný k chovu sumce, candáta a tilapie, v současnosti pak zejména sumečka afrického). V roce 2014 byl zahájen provoz menší RAS firmy Agrodružstva Lhota pod Libčany u Pardubic (s chovem tilapie a sumečka afrického). V roce 2015 byly uvedeny do provozu menší vertikální recirkulační systémy využívající tepla z bioplynových stanic u firmy Tilapia v Chýnově u Tábora (s chovem sumečka afrického a tilapie) a firmy ZOD 11. května v Milíně (s chovem sumečka afrického). První z uvedených firem v současnosti buduje další odchovné kapacity s využitím RAS. Další v ČR postupně budované a provozované recirkulační systémy menší a střední velikosti jsou experimentálního případně i poloprovozního charakteru na několika pracovištích FROV ve Vodňanech (první poloprovozní systém byl uveden do provozu již v roce 1985) a v Českých Budějovicích, na Ústavu rybářství a hydrobiology Mendelovy univerzity v Brně, Státním veterinárním ústavu v Brně, či jsou využívány k chovu okrasných ryb firmou Alcedor ve Zlivi, firmou Rybářství Pohořelice ve Velkém Dvoře a dalšími. V tisku se v posledním období objevují zprávy o přípravě výstavby několika velkých akvakulturních jednotek na Moravě s využitím RAS, speciálně akvaponií. Výstavba další akvaponické jednotky se připravuje v Aši (podle vzoru v nedalekém německém městě Tettau, u obou farem je zdrojem tepla v sousedství provozovaná sklárna). Existují informace o přípravě výstavby RAS na několika místech na Českomoravské vysočině i jinde v ČR.

Vedle dotační politiky jsou na podporu rozvoje a využití RAS pořádány různé akce. V roce 2008 byl ve VÚRH Vodňany uspořádán historicky první specializovaný dvoudenní seminář, později byly akce podobného zaměření, určené pro chovatelskou veřejnost, v různých variantách organizovány opět ve Vodňanech a v Brně. Na mezinárodní úrovni jsou rovněž pořádány tradiční specializované konference (např. konference pořádaná v sudých letech v městě Roanoake v USA) a každoroční školení specialistů, organizovaná EAS či WAS (Evropskou, resp. Světovou akvakulturní společností), i dalšími partnery, se zaměřením na provozování recirkulačních systémů v akvakultuře. Mimo jiného, dvoudenní školení zaměřené na využití RAS bylo součástí programu světové akvakulturní konference a výstavy v Praze v r. 2012. V r. 2015 bylo na Kanárských ostrovech uspořádáno praktické školení se zaměřením na problematiku využití akvaponií. V letošním roce se podobné školení s tématikou novinek v RAS konalo v jižní Francii.

Aktuální důvody pro masivnější orientaci na RAS v ČR, lze v současnosti spatřovat zejména ve zvládnutí zdravotní situace v chovech lososovitých ryb (trvalé zdravotní ohrožení při využívání povrchových vod průtočnými systémy k tomu záruky nedává), přípravě na možná produkční omezení prodikce kapra vlivem rozšiřování ohnisek KHV v rybnících a potřebou nasycení výšeného zájmu spotřebitelů o celoroční nákup ryba rybích výrobků, včetně větší druhé pestrosti.

Současnou situaci v rozvoji RAS v ČR, lze charakterizovat nástupem podnikatelů a provozovatelů z oblasti zemědělství i jiných sfér byznysu do rozvoje akvakultury. Ta ovšem přinesla i jejich určité podcenění chovatelsko-technologických a zdravotně-hygienických specifik akvakulturní produkce. Obecně jsou podceňovány potřeby dodržování preventivních a hygienických zásad, zejména při nákupu násadového materiálu (orientace na nákupy „levného“ plůdku, neschopnost predikce a včasných rozhodnutí o likvidaci obsádek a čekání na obrat k lepšímu, který nenastane). Významným negativním faktorem může být podceňování ekonomických rizik při výstavbě RAS (přeinvestování, zadluženost). I přes relativně vysoký počet absolventů středních a vysokých škol v ČR se zaměřením na výchovu odborníků v chovu ryb pokračuje podceňování potřeby kvalifikovaného a spolehlivého personálu nově vznikajících objektech s RAS, důvodem je nedostatečná připravenost, zejména nedostatek praktických zkušeností z provozu RAS a nedostatečná, jen minimální orientace obecně v ekonomice, investiční politice a marketingu u současných rybářsky vysokoškolsky vzdělaných odborníků v oblasti rybářství, související s podceněním výuky těchto předmětů, při současné orientaci výuky spíše na vědecky atraktivní rybářské disciplíny (což souvisí s faktickou dlouhodobou absencí rybářského ekonoma v celé akademické sféře v ČR). Efektivnějšímu začlenění RAS v ČR do systému chovatelů ryb je na škodu i roztříštěnost producentů ryb v RAS, způsobená jednak neochotou většiny velkých rybářských firem, orientovaných převážně nebo téměř výlučně na klasickou produkci kapra v rybnících, akceptovat nově vzniklou součást akvakultury v rámci současného Rybářského sdružení ČR, jednak neschopností nově vzniklých produkčních struktur vytvořit efektivní samostatnou, dalším zájemcům otevřenou platformu pro paralelní rozvoj, vedle současného Rybářského sdružení ČR. Za dostatečně efektivní, potřebám rozvoje RAS, nelze považovat ani současnou orientaci dotační podpory v ČR.

Poděkování

Práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy – projektem “CENAKVA II“ (No. LO1205 pod NPU I programem) a projekty NAZV (QJ1210013 a QJ15101117).

VLIV MANAGEMENTU KVALITY VODY NA OŽIVENÍ A FUNKCI BIOLOGICKÉHO FILTRU V RECIRKULAČNÍM SYSTÉMU

Štěpán Lang, Ivan Manga

Ing. Štěpán Lang, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Zemědělská 1, 613 00, Brno.
Email: stepanlang@gmail.com

Mgr. Ivan Manga, Ph.D., Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno.
Email: mangai@seznam.cz

Úvod

Se zvyšujícím počtem recirkulačních systémů využívaných pro chov ryb a vodních živočichů (RAS) celosvětově a zkušenostmi s recirkulací vody se stále objevují problémy s funkcí biofiltru (BF) v závislosti na managementu její kvality. Funkce BF je pro RAS naprosto zásadní, protože biologická filtrace přeměňováním toxických forem dusíku (NH_3 a NO_2-) na formy netoxické pro ryby a vodní organismy (NO_3- a N_2) udržuje obsádku chovného systému při životě. K přeměně amoniaku a dusitanů je v aerobním prostředí využíváno především nitrifikace s konečným produktem ve formě dusičnanů. V anaerobním prostředí ve využíváno denitrifikace s konečným produktem N_2 (plynný dusík). Nitrifikační bakterie jsou pomalu rostoucí bakterie (Knowles a kol. 1965, Painter a Loveless, 1983). Pomalý růst nitrifikačních bakterií je důvodem jejich pomalých reakcí na změny prostředí. Pokud je jejich počet ovlivněn, většinou snížen, nějakým zásahem do RAS, trvá poměrně dlouhou doby, než se funkce biologického filtru vrátí na původní úroveň. Doba omezení funkce biologického filtru je charakteristické zvyšováním koncentrace amoniaku a dusitanů v systému, podobně, jako při záběhu biologického filtru. Zvyšování koncentrace amoniaku a dusitanů může vést až k úhynu obsádky RAS (Kroupová et al., 2005, Máchová and Svobodová, 2001, Svobodová et al., 2005). Management kvality vody a obzvláště rychlé změny její kvality vedou povětšinou k omezení funkce biologického filtru. Otázkou potom je, zda změny managementu kvality vody v RAS vedou k redukci počtu, nebo pouze k omezení funkce nitrifikačních bakterií.

Tato studie byla zaměřena na sledování vlivu změn kvality vody a zdroje amoniaku na funkci a počet amoniak oxidujících bakterií (AOB). Funkce byla kontrolována jejich schopností odbourávat denní dávku amoniaku a počet bakterií je vyjádřen jako počet replikací genu 16s rRNA a počet genomů obsahujících gen amoA odpovědný za schopnost bakterií přeměňovat amoniak na dusitany.

Materiál a metodika

RAS

Test probíhal v RAS o celkovém objemu 2360 l vybaveném BF BEHNCKE. Bead-F.d500m.Schaltfilter (Německo) naplněným 50 l Kandnes® K1 a oběhovým čerpadlem čerpajícím 16000 l/h. Celý objem vody protekl BF 6,78x za hodinu. Záběh BF byl proveden smícháním 15 l zaběhlých filtračních elementů se 35 l nových filtračních elementů a „krmením“ bakterií v BF chloridem amonným po doby 1 měsíce, než byla stabilizována schopnost BF odbourávat amoniak. Po stabilizaci funkce BF byl zahájen test.

Odběr a skladováni vzorků, měření fyzikálně chemických parametrů a chemické analýzy

Každý vzorek byl odebrán do 50ml zkumavky se šroubovacím uzávěrem do 40 ml destilované vody. Vzorek se skládal vždy ze 30 ks Kaldnes K1 a do provedení genetické analýzy byl skladován zamražený na -21 °C. Teplota, pH, nasycení vody kyslíkem a koncentrace kyslíku ve vodě byly měřeny každá den v 7:00 hodin. K měření těchto parametrů byl použit multimetr HQ40D se sondami IntelliCAL LDO101Rugged Luminiscent/Optical Dissolved Oxygen (LDO) a IntelliCAL PHC301 Laboratory Refillable pH Electrode – Hach Company (USA). Vzorky pro chemickou analýzu (N-NH4$^+$, N-NO2$^-$ a Cl$^-$) byly odebírány a analyzovány spolu s odebíráním vzorků v akvarijních místnostech v 6:30 h ráno. Analýzy vody byly prováděny standardními metodami podle APHA (1998) a Pitter (2009) se zakončením spektrofotometrem photoLAB UV-VIS 6600 (WTW, Německo). Při standardním režimu byly bakterie „krmeny“ chloridem amonným (NH4Cl) v množství 69 g za den. Jako alternativní zdroj amoniaku byl testován 25% roztok amoniaku (77 ml). Amoniakální dusík byl do systému přidáván vždy v 8:00 spolu s krmením ryb v akvarijní místnosti. S výjimkou testování vlivu sníženého pH (<7) a kumulace chloridů bylo pH v systému udržováno přes 7,3 přidáváním kalcinované sody (Na2CO3). Během kumulace chloridů byl pro zvyšování pH použit hydroxid draselný. Snížení pH pro pokus bylo provedeno přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové (HCl). Koncentrace chloridů byla udržována částečnými výměnami vody (max. 1/3 najednou) pod 500 mg.l^{-1} až do konečné fáze, kdy byl testován vliv zvyšování koncentrace chloridů na odbourávání amoniaku.

Genetická analýza

Příprava vzorku pro genetickou analýzu začínala třepáním vzorku ve zkumavce rychlostí 300 kmitů za minutu při teplotě 37 °C po dobu tří hodin. Následně bylo odstředělo 10 ml vzorku destilované vody s bakteriemi a pelet byl použit jako materiál pro analýzu. Genomová DNA byla čištěna za standardních podmínek NucleoSpin Tissue kit (Macherey Nagel Inc., Francie), koncentrace vzorku byla měřena pomocí Tecan 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., DE, USA). Následně byla provedena qPCR pro kvantifikaci genu amoA specifického pro všechny bakterie schopné nitritace (AOB) za pomoci primeru produkujícího 491 párů bazí (PB) dlouhý produkt (Jin a kol., 2011; Kelly a kol., 2011). Experimentální test na obsah AOA (amoniak oxidující archea) provedený podle publikovaného protokolu (Francis a kol., 2005; Jin a kol., 2011) ukázal, že AOA byly ve vzorku zastoupeny pouze minoritně. Z tohoto důvodu jsme se dále zaměřili pouze na skupinu AOB. Qantifikace 16S rRNA s primery podle Tseng a kol. (2003) s 216 PB dlouhým PCR produktem byla použita jako referenční k určení celkového množství bakteriální DNA ve vzorku. Aplikace BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov) byla použita pro otestování qPCR specificity. Palsmidové standardy potřebné pro vytvoření kalibračních křivek byly připraveny klonováním relevantních částí amoA a 16S rRNA genů do pGEM Easy vector (pGEM Easy, Promega Ltd.), transformáty byly potvrzeny sekvencováním. Templátová DNA pro získání referenčních PCR produktů využitých v klonovacích experimentech byla reprezentována genomovu DNA získanou ze sladkovodního RAS, respektive z referenčního kmenu E. coli K-12. Referennčí počty copií genů v plasmidových standardech byly odhadnuty na základě informací získaných z volně přístupných internetových stránek: http://cels.uri.edu/gsc/cndna.html. Obě qPCR byly provedeny ve 20 µl objemech s využitím FastStart Universal SYBR Green Master Mixu (Roche Ltd., USA) na stroji LightCycler 480 II (Roche Ltd., USA). Reakční směs obsahovala primery o koncentraci350 nM a 1 µl

templátové DNA. Cuklus qPCR se skládal z: počáteční denaturace při 95°C po dobu 5 minut následované 39 cykly 94°C po 35 sekund, 60 °C po 30 s a 72 °C po 30 s. Cyklus pro amoA qPCR byl 94 °C po doby 5 min. a 39 cyklů 90°C po 30 s, 56 °C po 30 s a 72 °C po 40 s. Každý vzorek byl analyzován 3x. Pro statistické hodnocení byly použity průměrné hodnoty. Pozitivní a negativní kontrola byla součástí každého cyklu qPCR. Pro výpočet kvantitativních čísel cylků byla použita metoda druhé maximální derivace (LightCycler 480 software, Roche Ltd.) Efektivita amplifikace byla vypočítána automaticky z křivek koncentrací standardů a byla použita k vypočtení konečného čísla počtu kopií genů.

Testované zásahy do systému

Během pokusu bylo testováno snížené pH v systému (pod 7,0), dva zdroje amonných iontů (NH_4Cl a NH_3), každodenní výměna poloviny objemu vody v RAS a nárůst koncentrace chloridů až do hodnoty 908,00 mg.l^{-1} (6. září 2016).

Průběh testu

Začátek testu byl 22. dubna 2016 a konec testu 6. září 2016. První fází byl odběr vzorků ze zaběhlého BF po dobu 12 dnů při standardním režimu. Amonné ionty byly bakteriím dodávány ve formě NH_4Cl (69 g.d^{-1}). V prvním pokusném kole byl testován jiný zdroj amonných iontů (NH_3 – 77 ml 25% roztoku). Na konci tohoto cyklu byla vyměněna 1.3^{-1} objemu vody v RAS a test pokračoval 12 denní fází standardního režimu. Druhé kolo testu bylo zaměřeno na snížení pH v RAS. Po tuto dobu byla do RAS dávkována koncentrovaná HCl a pH v systému bylo udržováno pod úrovní 7 (15 dní). Následovala 18 denní fáze standardního režimu. Ve třetí pokusné fázi byla denně vyměněna ½ objemu vody v RAS. Vzorky pro chemické analýzy byly odebrány před výměnou vody a zdroj amoniaku byl dávkován po její výměně. Poslední fází byla postupná kumulace koncentrace chloridů po dobu 59 dnů až do hodnoty 908,00 mg.l^{-1}. pH v systému bylo udržováno nad hodnotou 7,3 přidáváním hydroxidu draselného z důvodu zabránění zasolování RAS. Předmětem testu byl vliv koncentrace chloridů na AOB ne vliv soli (NaCl).

Statistická analýza

Pro vyhodnocení vlivu jednotlivých zkoumaných faktorů na funkci BF a množství AOB byla použita jednofaktorová ANOVA (Scheffeho test). Hodnocena byla koncentrace zbývajícího N-NH4^{+} [mg.l^{-1}], celkový počet bakterií jako počet genomů bakterií vypočtený z koncentrace 16S rRNA, množství AOB jako počet genomů obsahujících gen amoA a podíl AOB z celkového množství bakterií. Pro kontrolu funkce druhé fáze nitrifikace, nitratace, byla do hodnocení zařazena i koncentrace N-NO_2^- [mg.l^{-1}].

Výsledky a diskuse

Po celou dobu testu byla teplota vody v RAS 17,4 ± 0,74 °C, koncentrace kyslíku 9,17 ± 0,35 mg.l^{-1}, nasycení kyslíkem 98,11 ± 3,54 % a pH 7,56 ± 1,07 s výjimkou testování vlivu sníženého pH kdy bylo pH v systému na úrovni 6,23 ± 0,59. Výše zmíněné hodnoty odpovídají kvalitě vody vhodné pro nitrifikaci. Teplota, která byla přibližně o 18 °C nižší, než je optimum pro nitrifikaci (Saywer a kol., 1994), záměrně simulovala podmínky vhodné pro chov lososovitých ryb. Ve fázi testování vlivu snížené hodnoty pH na funkci a množství AOB v biofilmu narostlém na filtračních elementech a jejich poměru k celkovému množství bakterií biofilmu byla hodnota pH rovněž nižší, než je optimum pro nitrifikaci (Zhu a Chen, 2002, Korner a kol., 2001).

Ze statistické analýzy vyplývá, že zásahy do kvality vody v systému neměly průkazný vliv na množství, ani poměr bakterií narostlých na povrchu filtračních elementů s výjimkou kumulace Cl- v systému, kde bylo zjištěno průkazně vyšší procento AOB v bakteriálním biofilmu. Odlišnost však byla průkazná jen od skupiny vzorků odebíraných při výměně 1.2^{-1} objemu vody v systému denně (86,39 : 70,90 %). Podíl AOB v biofilmu byl snížen také při snížení pH v systému. Rozdíl byl však na hranici průkaznosti (p=0,0504). Tyto výsledky příliš neodpovídají výsledkům rozborů kvality vody během testu, kde byl statisticky vysoce významný (p<0,001) efekt snížení funkce nitritace při výměnách 1.2^{-1} objemu vody v systému. To odpovídá našim zkušenostem z provozu menších recirkulačních systémů, kde po výměně většího množství vody, i při dodržení stejné teploty vody a jejího odstátí/odplynění, dochází ke snížení účinnosti biologické filtrace na dobu až několika dnů. Průměrná koncentrace N-NH_4^+ v systému před výměnou vody byla 0,96 ± 0,40 mg.l^{-1} oproti 0,05 – 0,41 mg.l^{-1} v průměrech u ostatních testovaných faktorů a ve fázích regenerace. V případě N-NO_2^- se jejich koncentrace od ostatních testovaných faktorů lišila pouze u použití roztoku NH_3 jako zdroje N.NH_4^+ a to tím, že byla průkazně nižší (2,77 ± 0,37 oproti 17,87 – 41,97 mg.l^{-1} v průměru. Tento faktor však byl testován před snižováním pH, po kterém se účinnost nitratace neobnovila až do konce testu, proto tomuto výsledku nelze připisovat příliš vysokou vypovídací hodnotu. Zvyšování koncentrace chloridů až na úroveň 908,00 mg.l^{-1} nemělo vliv na funkci AOB, ale pozitivně ovlivnilo jejich poměr vůči ostatním bakteriím biofilmu na elementech v BF.

Závěr

Zjištěné výsledky napovídají, že změny managementu kvality vody v RAS poměrně výrazně ovlivňují funkci biologické filtrace, přičemž mají relativně malý vliv na počet a poměr nitrifikačních bakterií v biofilmu narostlém na elementech v BF. Z tohoto důvodu lze doporučit udržovat co možná nejstabilnější podmínky v RAS a například v případě zvýšení obsahu dusitanů potlačovat jejich toxicitu raději přidáním chloridů do systému, než výměnou většího objemu vody a tím snížením intenzity funkce BF jako celku.

Poděkování

Tento příspěvek vznikl za podpory projektu (NAZV) číslo QJ1210013: Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče.

Literární zdroje

Chen, S., Ling, J., Blancheton, J.-P.,2006, Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors, Aquacultural Engineering, 34 (3), s. 179-197.

Francis, C.A., Roberts, K.J., Beman, J.M., Santoro, A.E., Oakley, B.B., 2005 Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. Proc Nat Acad Sci USA. 102(41) s. 14683-14688.

Jin, T., Zhang, T., Ye, L., Lee, O.O., Wong, Y.H., Qian, P.Y., 2011, Diversity and quantity of ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediment of the Pearl River Estuary, China. Appl Microbiol Biotechnol. 90(3):1137-1145.
Engineering, 10 (3), s. 183-205.

Kelly, J.J., Policht, K., Grancharova, T., Hundal, L.S., 2011 Distinct responses in ammonia-oxidizing archaea and bacteria after addition of biosolids to an agricultural soil. Appl Environ Microbiol. 77(18), s. 6551-6558.

Korner, S., Das, s.k., Veenstra, S., Vermaat, J.E., 2001, The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to Lamna gibba, Aquatic Bot. 71 s. 71 – 78.

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

Kroupová, H., Máchová, J., Svobodová, Z. 2005. Nitrite influence on fish: A review, Vet. Med-Czech, 50 (11), s. 461 – 471. ISSN: 0375-8427

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

Painter, H.A., Loveless, J.E. Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated-sludge process (1983), Water Research, 17 (3), pp. 237-248.

Sajuni, N.R., Ahmad, A.L., Vadivelu, V.M., Effect of filter media characteristics, ph and temperature on the ammonia removal in the wastewater (2010), Journal of Applied Sciences, 10 (12), pp. 1146-1150.

Saywer, C.N., McCarty, P.L., Parkin, G.F., 1994, Chemistru for environmental engineering, 4th Edn.,McGraw Hill, Singapore, ISBN: 0-070113908-7.

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

Tseng, C.P, Cheng, J.C., Tseng, C.C., Wang, C, Chen, Y.L., et al., 2003, Broad-range ribosomal RNA real-time PCR after removal of DNA from reagents: melting profiles for clinically important bacteria. Clin Chem 49: 306–309.

Wortman, B., Wheaton, F., 1991, Temperature effects on biodrum nitrification, Aquacultural eng. 10 (3), s. 183-205.

Zhu, S., Chen, S. 2002, The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters, Aquacultural Engineering, 26 (4), pp. 221-237.

VÝSKYT NEBEZPEČNÝCH NÁKAZ V INTENZIVNÍCH CHOVECH LOSOSOVITÝCH RYB.

L. Pojezdal[1,2], E. Jelínková[1], A. Čížek[1], I. Papežíková[1], S. Navrátil[1], T. Veselý[2], M. Palíková[1]

[1]Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel
[2]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Oddělení virologie

Na území Českej republiky sa u lososovitých rýb stretávame s dvoma nebezpečnými nákazami (neexotickými nákazami podľa prílohy IV časti II Směrnice rady 2006/88/ES). Jedná sa o infekčnú hematopoetickú nekrózu (IHN) a vírusovú hemoragickú septikémiu (VHS). Klinické príznaky, vnímavé druhy rýb a najmä diagnostické a eradikačné opatrenia sú pre tieto dve ochorenia prakticky totožné, ale práve VHS je v rozpätí posledných rokov v ČR výrazným problémom so závažnými ekonomickými dôsledkami. Preto je prevažne na túto chorobu zameraný aj náš príspevok.

V prostredí Českej republiky sa pôsobenie vírusu vírusovej hemoragickej septikémie prejavuje najmä v produkčných chovoch lososovitých rýb. Druhom najviac vnímavým k infekcií VHS je pstruh dúhový (Oncorhynchus mykiss). Jeho citlivosť na vírus VHS býva umocnená prostredím intenzívneho farmového chovu s hustou rybou osádkou. Prvou líniou obrany voči šíreniu tohto patogénu je chovateľ živočíchov pochádzajúcich z akvakultúry. Jeho práva a povinnosti, ako aj povinnosti a právomoci orgánov veterinárnej správy vo vzťahu k tejto nákaze upravuje najmä nasledujúce legislatívne predpisy:

- Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů

- Směrnice rady 2006/88/ES o veterinárních pozadavcích na živočichy pocházejíci z akvakultury a produkty akvakultury a tlumení některých nákaz vodních živočichů

- Prováděcí rozhodnutí Komisie (EU) 2015/1554, kterým se stanoví prováděcí pravidla ke směrnici 2006/88/ES, pokud jde o požadavky na metody dozoru a diagnostické metody

- Nařízení komise (ES) č. 1251/2008 kterým se provádí směrnice Rady 2006/88/ES, pokud jde o podmínky a požadavky na osvědčení pro uvádění živočichů pocházejících z akvakultury a produktů akvakultury na trh

- Vyhláška kterou se mění vyhláška č. 290/2008 Sb., o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů

Charakterizácia patogéna

Pôvodca VHS je vírus z čeľade Rhabdoviridae, do ktorej patrí aj vírus infekčnej hematopoetickej nekrózy (IHNV). VHSV je delený do štyroch genotypov, ktoré sú charakteristické geografickou príslušnosťou. Na území ČR je najpravdepodobnejší výskyt genotypu I typického pre kontinentálnu Európu. VHSV je schopný napádať široké druhové spektrum rýb. Smernica rady 2006/88/ES rozdeľuje druhy rýb na

vnímavé (Tabuľka 1) a prenášačov (Tabuľka 2). Podmienkou štatútu prenášača VHSV je umiestnenie, alebo pôvod uvedeného druhu v lokalite s výskytom vnímavých druhov. Čiastočne vnímavé však môžu podľa manuálov OIE byť aj ďalšie druhy rýb.

Tabuľka 1 Vnímavé druhy podľa Směrnice rady 2006/88/ES, Příloha IV Část II
sleď (Clupea spp.), síh (Coregonus sp.), štika obecná (Esox lucius), treska skvrnitá (Gadus aeglefinus), treska (Gadus macrocephalus), treska obecná (Gadus morhua), Oncorhynchus spp., pstruh duhový (Oncorhynchus mykiss), treska hlubinná (Onosmustelus), pstruh obecný (Salmo trutta), pakambala velká (Scophtalmus maximus), šprot (Sprattus sprattus) a lipan podhorní (Thymallus thymallus)

Tabuľka 2 Prenášači podľa Nařízení komise (ES) č. 1251/2008
vyza velká (Huso huso), jeseter ruský (Acipenser gueldenstaedtii), jeseter malý (Acipenser ruthenus), jeseter hvězdnatý (Acipenser stellatus), jeseter velký (Acipenser sturio), jeseter sibiřský (Acipenser Baerii), tolstolobec pestrý (Aristichthys nobilis), karas zlatý (Carassius auratus), karas obecný (C. carassius), kapr obecný a kapr koi (Cyprinus carpio), tolstolobik bílý (Hypophtalmichthys molitrix), jelec (Leuciscus spp), plotice obecná (Rutilus rutilus), perlín ostrobřichý (Scardinius erythrophthalmus), lín obecný (Tinca tinca), keříčkovec jihoafrický (Clarias gariepinus), štika obecná (Esox lucius), sumeček (Ictalurus spp.), sumeček černý (Ameiurus melas), sumeček tečkovaný (Ictalurus punctatus), pangas obecný (Pangasius pangasius), candát obecný (Sander lucioperca), sumec velký (Silurus glanis), mořčák evropský (Dicentrarchus labrax), mořčák pruhovaný (Morone chrysops x M. saxatilis), cípal hlavatý (Mugil cephalus), smuha červená (Sciaenops ocellatus), smuha královská (Argyrosomus regius), smuha bradavičnatá (Umbrina cirrosa), tuňák (Thunnus spp.), tuňák obecný (Thunnus thynnus), kanic západoafrický (Epinephelus aeneus), kanic temný (Epinephelus marginatus), jazyk senegalský (Solea senegalensis), jazyk obecný (Solea solea), růžicha červená (Pagellus erythrinus), zubatec obecný (Dentex dentex), mořan zlatavý (Sparus aurata), Diplodus sargus, růžicha šedá (Pagellus bogaraveo), pražman červenavý (Pagrus major), mořan ostrorypý (Diplodus puntazzo), pražman obecný (Pagrus pagrus), tlamoun spp (Oreochromis)

Postihnuté sú všetky vekové kategórie vnímavých druhov, najčastejšie sa však s klinickými príznakmi stretneme u rýb vo veku jedného roka.

Cestou šírenia vírusu je najčastejšie horizontálny kontakt rýb, prípadne kontakt rýb s infikovanou vodou. Ako vektor nákazy tiež môže slúžiť vybavenie a personál produkčného podniku akvakultúry (PPV), ako aj vodný hmyz a rybožravé vtáctvo. Vertikálny prenos ochorenia nebol dokázaný a napriek vylučovaniu vírusu v ovariálnej tekutine sú ikry po dezinfekcií ich povrchu prosté patogéna. Rezervoárom nákazy sú najmä ryby, ktoré prekonali infekciu a stali sa doživotnými vylučovateľmi nákazy. Mimo telo hostiteľa je pri teplote 4°C vírus schopný v aktívnej podobe prežiť po dobu 35 dní. Táto doba však môže byť predĺžená silným organickým znečistením vody.

Optimálna teplota pre šírenie vírusu je 1 až 14 °C. Táto teplota je zhodná s najčastejším výskytom klinických príznakov a zvýšenej úmrtnosti v chovoch. V našich podmienkach sa VHS prejaví obvykle v jarnom období, v čase kolísajúcej teploty vody. Vírus je aktívny aj pri vyšších teplotách, až do 20°C, obvykle s miernejším a kratším priebehom ochorenia, s nižšou mortalitou. Táto za pre vírus optimálnych podmienok dosahuje 5 - 80 %, podľa virulencie daného kmeňa vírusu, postihnutého druhu ryby, zdravotného stavu osádky a podmienok prostredia. Najvyššiu mortalitu blížiacu sa 100 % dosahuje u drobného plôdiku pstruha dúhového (do 3g).

Vylučovanie vírusu rybou začína už 3-5 dni po infekcií, najintenzívnejšie je 7-8 dní po infekcií, kedy pozorujeme aj najvýraznejšie klinické príznaky.

Klinické príznaky a pato-anatomický nález

Náhle zvýšenie mortality v chove, apatia, znížený príjem krmiva, poruchy plávania, oddeľovanie sa od húfu, zhromažďovanie oslabených kusov vo výtoku. K typickým príznakom patrí stmavnutie povrchu tela, exoftalmus, anémia žiaber, zväčšenie telesnej dutiny v dôsledku hromadenia tekutiny (Obr.1) a krvácaniny na báze plutiev, na očiach a v podkoží.

Obr.1 – Zväčšenie dutiny telesnej, exoftalmus, anémia žiabor u VHS (O.mykiss)

Charakteristickým nálezom pri pitve sú petechiálne (roztrúsené) krvácaniny na orgánoch, v podkoží a v svalovine (Obr.2). Typickou lokalitou týchto zmien je svalovina chrbta (Obr.3).

Obr.2 – Prítomnosť krvácanin na peritoneu, medzi orgánmi, v játrech, v srdci, zväčšenie sleziny, anémia jater u VHS (O.mykiss)

Obr.3 – Prítomnosť krvácanin vo svalovine chrbta

Dôležité je poznamenať, že ochorenie môže výnimočne prebiehať bez typických klinických príznakov a každý neobjasnený hromadný úhyn v chove preto môže byť znamením výskytu nebezpečnej nákazy.

Diagnostika pôvodcu

Kapitolu dozoru nad nákazovým štatútom jednotlivých PPA upravuje Prováděcí rozhodnutí Komisie (EU) 2015/1554 a Směrnice rady 2006/88/ES.

V prvom rade je podstatné správne určiť skupinu zvierat, ktoré budú odobrané za účelom vyšetrenia. V prípade vysloveného podozrenia na nebezpečnú nákazu vzorky tvoria vždy živé ryby, ktoré preukazujú klinické príznaky ochorenia, ak sa také v chove stále nachádzajú. Možný, aj keď menej vhodný, je aj odber čerstvo uhynutých kusov, prípadne klinicky zdravých jedincov z postihnutého chovu.

V prípade, že sa v hospodárstve nachádzajú kusy pstruha dúhového s klinickými príznakmi, odoberú sa vždy vzorky tohto druhu a to v počte 10 kusov. Ak klinické príznaky prejavujú iné vnímavé druhy rýb, prípadne sa v hospodárstve pstruh dúhový nevyskytuje, odober činí spolu 30 kusov rýb, so zastúpením všetkých druhov a kategórií v chove.

Rovnaké pravidlá platia aj pre odber rýb v rámci preventívneho monitorovania nebezpečných nákaz. Vtedy sa odber tiež zameriava na ryby uhynuté, alebo oslabené, zhromažďujúce sa vo výtoku. V rámci dohľadu nad chovom generačných rýb sa odoberá ovariálna tekutina alebo semeno, vždy od 30 kusov rýb. Odbery vzoriek v rámci monitoringu prebiehajú vždy za teplotných podmienok nepresahujúcich 14 °C, optimálne v najchladnejšom období v roku. Ak je potrebné opakované vyšetrenie, prebieha najskôr po 4 mesiacoch od posledného, stále však za podmienky dodržania maximálnej teploty vody.

Odlovené ryby sú na vyšetrenie zasielané podľa možností živé, uhynuté kusy a telesné tekutiny chladené tak, aby nedošlo k ich zamrazeniu. V ojedinelých prípadoch je možné materiál zmraziť na teplotu nižšiu 20 °C, v tom prípade ale nesmie pred vyšetrením samotným dôjsť k ich opakovanému rozmrazeniu.

V laboratóriu oprávnenom pre vyšetrovanie nákaz rýb (SVÚ Praha, Jihlava, České Budějovice a NRL pre virové choroby ryb) bude odobraný a spracovaný materiál pre samotné virologické vyšetrenie. Ide konkrétne o slezinu, hlavovú obličku a srdce alebo mozog, prípadne samostatne vyšetrovanú ovariálnu tekutinu, resp. semeno. Jedna vzorka môže obsahovať zmes materiálu z maximálne 10 kusov rýb.

V súčasnosti povolené diagnostické metódy sú:

- Izolácia vírusu na bunkovej kultúre s následnou identifikáciou pôvodcu pomocou imunosorbentového stanovenia (ELISA), nepriameho imunofluorescenčného testu (IFAT), vírusneutralizačného testu (VNT) alebo pomocou polymerázovej reťazovej reakcie s reverznou transkripciou v reálnom čase (RT-qPCR).
- Samostatne použitá RT-qPCR.

Výskyt nákazy VHS v danom chove je možné vylúčiť v prípade, že vyššie uvedené testy označia vzorky ako negatívne na prítomnosť vírusu.

Preventívne opatrenia zavlečenia nákazy do chovu

Najčastejšou popisovanou cestou prenosu ochorenia je **obchodovanie** s rybami. Je preto podstatné poznať nákazový štatút hospodárstva, z ktorého je osádka nakupovaná. Je zakázané zasielať ryby do úsemí a PPA s lepším nákazovým štatútom. Z hľadiska výskytu nebezpečný neexotických nákaz delíme podľa 2006/88/ES krajiny a oblasti do piatich kategórií:
I Oblasť prostá nákazy, II Program dozoru, III Nedefinovaný štatút, IV Program eradikácie a V Zamorená oblasť. ČR patrí, pokiaľ ide o VHS a IHN do kategórie III - nedefinovaný nákazový status.

V rámci prevencie šírenia nebezpečných nákaz je tiež zakázané uvádzať na trh za účelom chovu **ryby z hospodárstva s potvrdeným výskytom ochorenia**, aj napriek možnej absencií klinických príznakov.

Druhým najčastejším spôsobom šírenia VHS je prostredníctvom zdieľaného vodného toku. **Infikovaniu hospodárstva vodou** je možné predchádzať samostatným zdrojom vody bez vnímavej rybej osádky (studňa alebo vrt), prípadne filtráciou a dezinfekciou prítokovej vody.
Nezanedbateľným faktorom prenosu ochorenia je **materiálne a prístrojové vybavenie hospodárstva**. Je preto nutné, aby v prípade prechodu medzi dvoma lokalitami dochádzalo vždy k dezinfekcií nástrojov, povrchových častí vozidiel a pracovných pomôcok a to vždy po príchode na novú lokalitu a pred jej opustením. Predmety z porézneho materiálu (drevo, siete) sú ťažko dezinfikovateľné, preto je nutné, aby boli používané výhradne v jednej prevádzke. Toto platí aj pre **pracovné odevy** a ochranné pomôcky zamestnancov.

Povinnosti chovateľa v prípade podozrenia na výskyt nebezpečnej nákazy

Chovateľ má v prvom rade povinnosť okamžite nahlásiť **podozrenie na výskyt nebezpečnej nákazy** príslušným úradom. Tak isto má povinnosť hlásiť zvýšený úhyn v chove veterinárnemu lekárovi, alebo príslušným úradom. Ohlasovaciu povinnosť s ním zdieľajú: Vlastník a akákoľvek osoba, ktorá sa stará o vodné živočíchy, osoba sprevádzajúca vodné živočíchy pri preprave, praktickí veterinárni lekári a ďalší pracovníci zaoberajúci sa zdravím vodných živočíchov, úradní veterinárni lekári a akákoľvek iná osoba s profesným vzťahom k vodným živočíchom.

Ďalej chovateľ do príchodu veterinárneho lekára zaistí aby vnímavé a choré zvieratá, predmety, živočíšne produkty a podľa možností ani osoby neopustili priestory hospodárstva. Po príchode úradného veterinárneho lekára musí postupovať podľa jeho pokynov a poučenia.

Postup KVS SVS v prípade potvrdenia výskytu nebezpečnej nákazy

Úrad vydá mimoriadne veterinárne opatrenia vo forme rozhodnutia pre samotné ohnisko a nariadenia pre ochranné pásma. Hospodárstvo, ktoré je ohniskom bude označené výstražnou tabuľou. Ryby v ohnisku s klinickými príznakmi budú usmrtené a bezpečne odstránené, tak isto ako ryby, ktoré nedosiahli tržnú hmotnosť. Ryby tržnej hmotnosti bez klinických príznakov budú vylovené, na mieste usmrtené a premiestnené do k priamemu spracovaniu v schválených spracovateľských zariadeniach. Všetky pomôcky, nástroje a zariadenia budú mechanicky očistené a následne dezinfikované. Nádrže budú vypustené, mechanicky očistené a následne dezinfikované. Směrnice rady 2006/88/ES vyžaduje ďalej 6 týždňové ponechanie nádrží úhorom.

KVS SVS ďalej stanoví pozorovaciu dobu, po ktorú bude v ohnisku prebiehať aktívny dozor a to kontrola zdravia vnímavých druhov rýb, minimálne dvakrát po dobu vhodných teplotných podmienok k odberom. Počas pozorovacej doby je zakázané vyvážať z hospodárstva ryby za účelom chovu.

Poďakovanie

Táto práca bola financovaná z výskumných projektov MZe NAZV QJ 1210013 a MZe NAZV QJ 1510077

Použitá literatúra

Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů

Směrnice rady 2006/88/ES o veterinárních pozadavcích na živočichy pocházejíci z akvakultury a produkty akvakultury a tlumení některých nákaz vodních živočichů

Prováděcí rozhodnutí Komisie (EU) 2015/1554, kterým se stanoví prováděcí pravidla ke směrnici 2006/88/ES, pokud jde o požadavky na metody dozoru a diagnostické metody

Nařízení komise (ES) č. 1251/2008 kterým se provádí směrnice Rady 2006/88/ES, pokud jde o podmínky a požadavky na osvědčení pro uvádění živočichů pocházejících z akvakultury a produktů akvakultury na trh

Vyhláška kterou se mění vyhláška č. 290/2008 Sb., o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů

OIE Aquatic Animal Health Code (2016)
http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/

OIE: Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals
http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/

OIE: Surveillance for Viral Haemorrhagic Septicaemia
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Internationa_Standard_Setting/docs/pdf/Aquatic_Commission/Surveillance_VHS.pdf

Revize MN SVS č.1/2013 ze dne 27.7.2015, kterým sa stanoví schvalování a registrace produkčních podniků akvakultury, postupy dozoru nad nebezpečným nákazami ryb a opatření při podezření a potvrzení těchto nákaz

Webové stánky SVS ČR
http://eagri.cz/public/web/svs/portal/

PROLIFERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ LEDVIN PSTRUHA DUHOVÉHO V PODMÍNKÁCH INTENZIVNÍHO CHOVU: PATOGENEZE, DRUHOVÁ VNÍMAVOST, TERAPEUTICKÝ EFEKT NACL

Miroslav Palíková[1], Ivana Papežíková[1], Veronika Kováčová[1], Eva Jelínková[1], Zdeňka Marková[1], Stanislav Navrátil[1], Libor Vojtek[2], Pavel Hyršl[2], Jan Mareš[3]

[1]Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel
[2]Masarykova univerzita Brno, Ústav experimentální biologie
[3]Mendelova univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství

Proliferativní onemocnění ledvin (PKD)

Proliferativní onemocnění ledvin (PKD) je způsobeno původcem Tetracapsuloides bryosalmonae (Myxozoa: Malacosporea). Hlavním cílovým orgánem původce jsou ledviny, které se následkem infekce až enormně zvětšují, zejména ve své kaudální části. Nejvíce vnímavý k tomuto onemocnění je pstruh duhový, zejména roček, u něhož při uplatnění sekundárních infekcí může mortalita dosáhnout vysokých hodnot (Clifton-Hadley a kol., 1984). T. bryosalmonae je dvouhostitelským parazitem. Infekční stádia jsou uvolňována z mechovek (Bryozoa) do vody, kde plavou a pronikají do lososovitých ryb přes kůži a zejména přes žábry (Longshaw et al., 2002). U lososovitých ryb jsou popisovány dvě fáze vývoje; v první fázi dochází k transportu původce krví do vnitřních orgánů, zejména do ledvin a sleziny, kde se vyvíjí extrasporogenní stádia způsobující masivní infiltraci a proliferaci intersticia. Druhá fáze nastupuje za 2-3 týdny, kdy původce migruje do ledvinných kanálků a tam vytváří sporogenní stádia (Tops et al., 2004). Spóry jsou vylučovány močí (Hedrick et al., 2004; Bettge et al. 2009). PKD se vyznačuje výraznou sezónností spojenou s teplotou vody. Klinické příznaky onemocnění a zvýšená mortalita se objevují při teplotě nad 15°C. Vyskytuje se nejčastěji u jednoletých ryb v měsíci červenci – říjnu což je spojeno s uvolňováním infekčních spór z mechovek a rovněž s proliferací parazitů v hostiteli – rybě. Po prodělané infekci bývají ryby imunní vůči reinfekci (Foott a Hedrick, 1987). Někteří autoři uvádí schopnost pstruha duhového kompletně regenerovat ledvinnou tkáň a eliminovat většinu parazitů (Bettge et al., 2009; Schmidt-Posthaus et al., 2012). Detailní vývoj, možnosti přenosu a uzavření vývojového cyklu nejsou ještě zcela objasněny. Sporogenní stádia v ledvinných tubulech byla nalezena u pstruha obecného a pstruha duhového (Bettge et al., 2009), ale zralé spory s polárními kapsulami byly detekovány pouze v tubulech pstruha obecného (Grabner and El-Matbouli, 2008). Ke snížení mortality je v literatuře doporučeno postupné zvyšování koncentrace soli až na 1,2%.

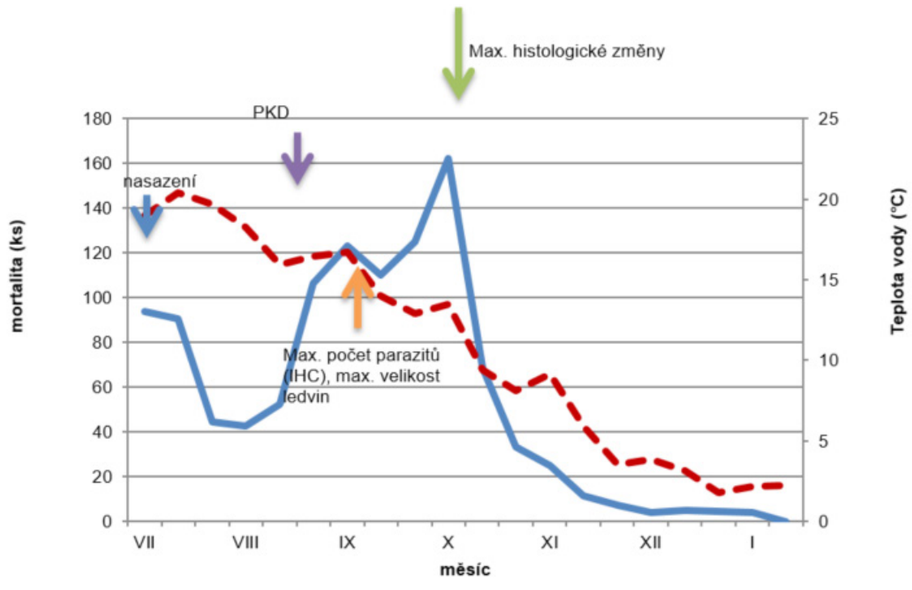
Použitý materiál a metodické postupy

Na základě zjištění zdravotních problémů v chovu lososovitých ryb byly v pěti termínech odebrány ryby vykazující příznaky onemocnění a ryby zdravé jiného původu, chované na jiném systému, ale stejného stáří, jako ryby kontrolní. Celkem bylo vyšetřeno 60 ks ryb nemocných a 45 ks ryb zdravých. Rybám byla odebrána krev z ocasních cév, poté byly ryby usmrceny a podrobeny pato-anatomickému vyšetření. Ode všech ryb byly odebírány vzorky ledvin, jater a sleziny pro histologické a imunohistochemické (IHC) vyšetření. V krvi byl stanoven celkový počet erytrocytů, hematokritová hodnota, koncentrace hemoglobinu a hodnoty výpočtové: střední objem erytrocytu (MCV), hemoglobin erytrocytu (MCH) a střední barevná koncentrace (MCHC), dále celkový počet leukocytů a oxidativní vzplanutí fagocytů. Byly zhotoveny krevní nátěry pro stanovení diferenciálních rozpočtů leukocytů. Vzorky krve byly rovněž odstředěny a plazma použita pro stanovení dalších imunologických parametrů: koncentrace celkových imunoglobulinů v plazmě a bakteriolytická aktivita komplementu v plazmě. Teplota vody ve sledovaném období byla při odběru t1 - 14°C, t2 - 12,5°C, t3 – 8°C, t4 – 4°C, t5 – 3°C.

Pro zjištění možnosti snížení ztrát pomocí zvyšování koncentrace NaCl ve vodě byla část nemocných ryb převezena na VFU v Brně, kde byly ryby rozděleny do dvou skupin po 50 kusech – na léčené a neléčené. Po dobu 14 dní jim byla postupně navyšována koncentrace NaCl až na konečnou koncentraci 8,1‰. Po 14 a 21 dnech po započetí aplikace NaCl bylo z každé skupiny odebráno vždy po 15 kusech ryb, které byly podrobeny patologicko-anatomické pitvě a byly jim odebírány vzorky ledvin na histologické a imunohistochemické vyšetření a rovněž vzorky krve na vybraná hematologická a imunologická vyšetření, podobně jak bylo uvedeno výše.

V daném intenzivním chovu byly v následujícím roce odebrány vzorky různých druhů a věkových kategorií chovaných ryb: pstruh duhový, roček (kusová hmotnost 92g), pstruh duhový, dvouroček (kusová hmotnost 236g) – na systému 2. rok, pstruh duhový, dvouroček (kusová hmotnost 168g) – na systému 1. rok, dále pak siven americký, dvouroček (kusová hmotnost 236g) – na systému 1. rok a kříženec sivena amerického a sivena arktického, dvouroček (kusová hmotnost 244g) – na systému 1. rok. Ryby byly odebírány po 10 kusech. Rybám po usmrcení byly odebrány vzorky ledvin, sleziny a jater na imunohistochemické vyšetření a vzorky ledvin na vyšetření přítomnosti původce pomocí molekulární PCR.

Obrázek č. 1. Mortalita ryb a průběh teploty vody od nasazení ryb po úplné odeznění příznaků onemocnění



Patogeneze onemocnění

Celková mortalita způsobená PKD byla odhadnuta na cca 30 %. Kumulativní mortalita dosahovala nejvyšších hodnot v září a říjnu (vždy 13.7%), v listopadu prudce

klesla na 2.8 % a v prosinci na 0.6 % (Obr 1). Zpočátku ryby vykazovaly klinické příznaky onemocnění: apatie, ztráta příjmu potravy a i patologicko-anatomickým vyšetřením jsme zjistili vysokou morbiditu vyšetřovaných ryb v různém rozsahu pato-anatomických změn: zvětšená dutina tělní, jedno nebo oboustranný exoftamus, petechiální krváceniny v kůži, tekutinu v dutině tělní, anemie žaber a vnitřních orgánů, lehce až roletovitě zduřelé ledviny zejména v kaudální části, změněná konzistence a barva ledvin, většinou zvětšená slezina, v některých případech rovněž barevně změněná (Obr.2). Tyto patologické změny v dalších odběrech vymizely, ačkoliv zduření ledvin a sleziny přetrvávalo v různém rozsahu až do prosince (Tab.1).

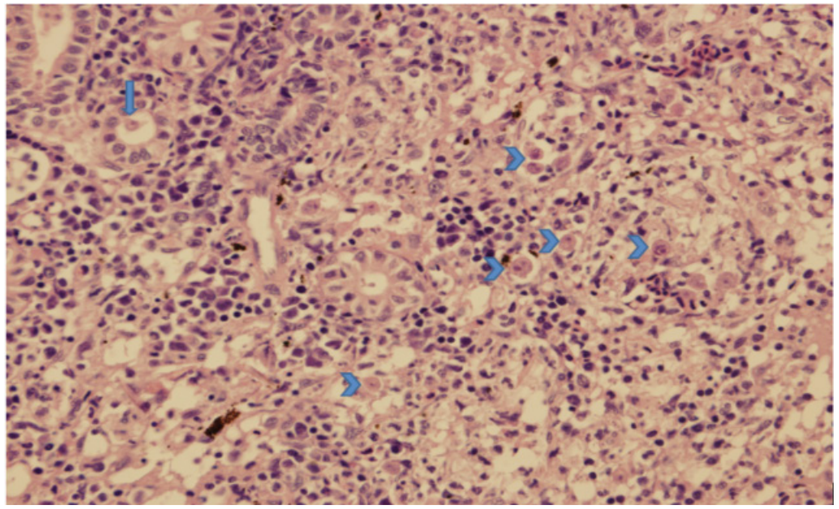
Obrázek č. 2. Vlevo: zvětšená dutina tělní, exoftalmus, krváceniny v kůži; vpravo: anemie jater, zvětšená slezina, enormně zvětšené mramorované ledviny v kaudální části.

Tabulka č. 1. Zduření ledvin v průběhu onemocnění vyjádřené ledvinným indexem (stupnice 0-6, kdy 0 znamená nezvětšené ledviny, 6 maximální zduření ledvin) a přítomnost histologických změn v ledvinách (stupnice – až +++, kde – značí bez histologických změn, +++ nejvýraznější histologický nález)

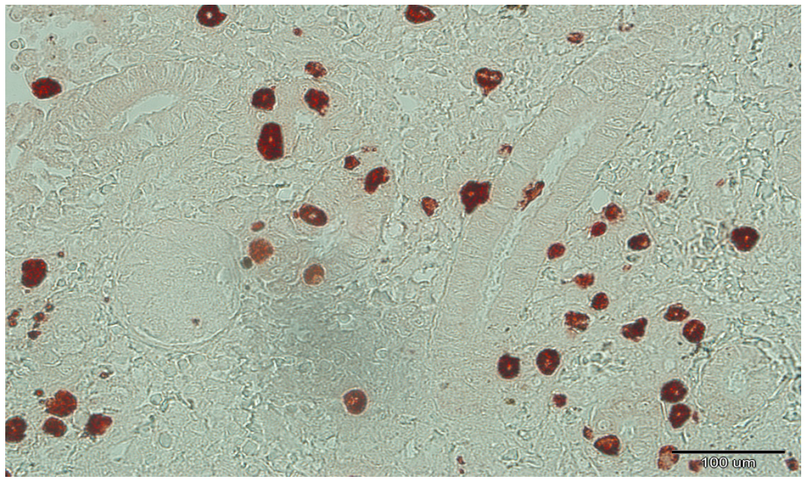
	září	říjen	listopad	prosinec	leden
Zduření ledvin (průměr a rozpětí)	4.8 (2-6)	2.9 (2-5)	2.2 (0-3)	0.5 (0-2)	0
Histologické změny v ledvinách	+++	+++	+	+-	-
n	20	10	10	10	10

Histologicky (Obr. 3) a imunohistochemicky (Obr. 4) jsme v ledvinách a ve slezině detekovali přítomnost původce PKD, Tetracapsuloides bryosalmonae. Jejich maximální počet byl zaznamenán v září (Tab. 2).

Obrázek č. 3. Histologický záchyt původců PKD. Extrasporogenní stádia v ledvinném parenchymu (›) a sporogenní stádium v ledvinném tubulu (↓).



Obrázek č. 4. IHC záchyt původce



Tabulka č. 2. Průměrný počet T. bryosalmonae (průměr z 10 zorných polí v každém vzorku, zvětšení 200x) a prevalence (%) ve sledovaných orgánech

	ledviny	slezina	játra
září	29.4-520.8; 100%	1.5-268.1; 100%	0.4-36.9; 80%
říjen	0.1-7.5; 40%	0.1-1.7; 30%	-
listopad	sporadicky; 20%	sporadicky; 20%	-
prosinec	-	sporadicky; 20%	-

Histologický nález byl charakterizován různým stupněm proliferace a kulatobuněčné infiltrace, u některých jedinců byla přítomna nekrotická ložiska, krváceniny, docházelo k alteraci tubulárních stěn v různém rozsahu od rozpadlé tubulární výstelky po totální destrukci. Rovněž byly nacházeny okrsky s masivní fibroproduktivní proliferací a nové tubulární bazofilně se barvící formace svědčící o neotubulogenezi. Tyto změny programovaly v říjnu, kdy bylo nacházeno velké množství tubulů s hyalinní kapénkovou degenerací a velká ložiska se zánětlivou infiltrací. V listopadu těchto změn ubývalo a paralelně jsme zaznamenali vyšší stupeň tubuloneogeneze. V prosinci již byl histologický nález téměř normální.

Rovněž v rámci červeného i bílého krevního obrazu jsme zaznamenali vážné změny a jejich výraznou dynamiku. Při prvním odběru byl červený krevní obraz charakteristický velice nízkým počtem erytrocytů, nízkou hematokritovou hodnotou a nízkou koncentrací hemoglobinu, což se odrazilo i ve výpočtových hodnotách. V rámci bílého krevního obrazu infekce způsobila rapidní úbytek leukocytů lymfocytární i myeloidní řady, ačkoliv nemocné ryby nadále vykazovaly lymfocytární charakter krve. Fagocyty se vyznačovaly výrazně vyššími hodnotami oxidativního vzplanutí, což je patrné zejména po přepočtu na daný počet fagocytů, kdy byla jejich schopnost uvolňovat kyslíkové radikály více než 15x vyšší oproti rybám zdravým. Rovněž aktivita komplementu a koncentrace celkových imunoglobulinů dosahovala u nemocných ryb vyšších hodnot. Z výsledků je patrné, že původce výrazně stimuloval imunitní odezvu organismu jak v oblasti buněčné nespecifické imunity, tak v oblasti humorální specifické i nespecifické imunity.

K vyrovnání hodnot červeného krevního obrazu došlo rychleji než u bílého krevního obrazu (hodnoty hemoglobinu již při druhém odběru, celkový počet erytrocytů ve třetím odběru), celkové počty leukocytů se vyrovnaly až ve čtvrtém odběru, což korespondovalo i s upravením fagocytární aktivity, která se v tomto odběru rovněž snížila na hodnotu kontrolní skupiny.

Druhová vnímavost

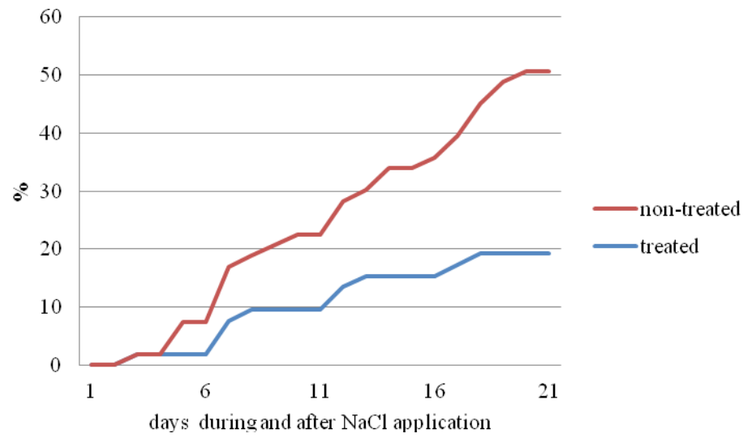
V rámci pokusu s vnímavostí různých druhů lososovitých ryb, jsme pomocí IHC zjistili, že nejvíce napadený byl pstruh duhový, roček, který vykazoval typický nález pro PKD a zvýšenou mortalitu, použitím IHC jsme detekovali masivní záchyt původců (ledviny 62-232; slezina 80-182; játra 2-10; 100% ve všech orgánech). Pstruh duhový, dvouroček, který byl na systému prvním rokem a s původcem PKD se setkal poprvé, vykazoval rovněž typický PA nález pro PKD v různém rozsahu a IHC byl zachycen i původce onemocnění (ledviny 4-121; 50%; slezina 3-97, 50%; játra 1-8, 20%). Pstruh duhový, dvouroček, který byl na systému druhým rokem a prodělal již PKD v roce předchozím, sice vykazoval některé příznaky PKD (zvětšená slezina, mírně zduřelé ledviny), ale nebyla zvýšená mortalita a ani IHC nebyl zachycen původce. Ani siven americký, dvouroček, ani kříženec sivena amerického a sivena arktického, dvouroček, nevykazovali žádné změny typické pro PKD a IHC nebyl zachycen původce. Pomocí PCR diagnostiky vykazovaly však některé IHC negativní vzorky pozitivitu, nicméně je patrné, že siveni i kříženci vykazují vyšší odolnost k onemocnění a nedošlo u nich k manifestaci klinických ani patologických projevů onemocnění.

Terapie NaCl

Postupné zvyšování NaCl snížilo mortalitu léčených ryb o více než 50% oproti neléčeným rybám (Obr 2). Ačkoliv počty parazitů detekovaných pomocí IHC byly nižší u léčených ryb oproti kontrole i v ledvinách (1.6 vs. 2.5) i ve slezině (0.6 vs. 0.7), nebyl

tento pokles statisticky významný. Jistý rozdíl byl však zaznamenán v rámci histologického vyšetření: u obou skupin byly shledány proliferativní změny v ledvinné tkáni, avšak zatímco u léčených ryb měly tyto změny charakter proliferativně-reparatorní, u neléčených ryb byly spíše jako změny reaktivní než reparatorní a rozsah poškození parenchymu je zřetelně větší, než u skupiny léčené NaCl.

Obrázek č. 5. Kumulativní mortalita po aplikaci NaCl



Závěr

Z hlediska patogeneze onemocnění je důležité, že u ryb i v souvislosti se snižující se teplotou vody ustala mortalita a vymizely klinické příznaky onemocnění a pato-anatomické změny. Ryby byly schopny regenerovat ledvinný parenchym a dokonce byly odolné vůči reinfekci v následujícím roce. Siveni a kříženci se jevili jako odolnější vůči PKD. V chovech, kde není možné zamezit zavlečení původce, je vhodné vnímavý druh nasazovat do systému až v pozdních podzimních měsících nebo využívat odolných druhů ryb. NaCl se jeví jako vhodný prostředek ke snížení mortality ryb, nikoliv však k úplné eliminaci onemocnění.

Použitá literatura je k dispozici u autorů.

Poděkování

Předložená studie vznikla za podpory projektů MZe NAZV číslo QJ1210013 a QJ 1510077.

ELIMINACE PŮVODCE ONEMOCNĚNÍ PKD V INTENZIVNÍM CHOVU RYB

Lukáš Mareš, Pavla Řezníčková, Veronika Brumovská

Mendelova univerzita v Brně, Oddělení rybářství a hydrobiologie,
Zemědělská 1, 613 00 Brno
xmares6@email.cz

Úvod

Akvakultura v České republice je spojena hlavně s chovem ryb v rybnících, ale v současnosti neustále přibývá specializovaných moderních systémů, které jsou určeny především pro intenzivní chov lososovitých ryb (MZe ČR 2014). Zařízení jsou mnohdy osídlena dalšími organismy, jejichž výskyt je ovlivněn hlavně lokálními podmínkami. Častými obyvateli jsou vodní bezobratlí, jejich funkce a případný vliv na systém je určen především ekologickými a biologickými vlastnostmi konkrétních druhů. Některé druhy nemají vliv na zařízení žádný, ale v některých případech může být jejich přítomnost nežádoucí, protože mohou systém významně ovlivňovat, například snižují funkčnost biofiltrů, kolonie zarůstají zařízení nebo jsou mezihostiteli parazitů ryb, kteří způsobují často velmi závažná onemocnění. Eliminace vodních bezobratlých ze systému pak může být velmi obtížná v některých případech nereálná. Cílem studie bylo vytvoření metodiky pro efektivní eliminaci mechovek v rybochovných zařízeních a zdrojích vody. Dalším bodem bylo vyhodnocení ekonomické efektivity navrženého řešení.

Jedním ze závažných onemocnění, které ohrožuje chovy lososovitých ryb v Evropě a v severní Americe je proliferativní onemocnění ledvin (PKD)(Hedrick et al. 1993, Okamura and Wood 2002). Průběh onemocnění je chronický, úmrtnost chovaných ryb může za určitých podmínek dosahovat až 90% (El-Matbouli and Hoffmann 2002), často proto způsobuje v chovech obrovské ekonomické ztráty. V České republice bylo onemocnění prokázáno poprvé roku 1986. Původcem tohoto závažného onemocnění, je parazit *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa, Malacosporea), který se usazuje v ledvinách nakažených ryb, jejichž tkáň následně bují a postupně ničí ledvinné kanálky (Svobodová 2007). Onemocnění se vyskytuje nejčastěji u jednoletých lososovitých ryb v období červenec až říjen, když teplota vody překročí 15°C, při nižších teplotách se projevuje velmi vzácně (Clifton-Hadley et al. 1984).

Životní cyklus původce onemocnění *T. bryosalmonae* je dvojhostitelský, prvním hostitelem jsou mechovky (Phylactolaemata, Bryozoa) (Lom and Dyková 2006). Dalšími hostiteli jsou lososovité ryby (Hrabcová 2015). Mechovky jsou běžně se vyskytující sladkovodní živočichové, kteří vytváří kolonie složené z jednotlivých jedinců (zoidů), ti zpravidla dosahují velikosti pouze několika milimetrů. Celé kolonie mechovek pak mohou dosahovat několika decimetrů, často vytváří nárosty na pevných ponořených předmětech (mola, kameny, lodě, atd.)(Wood 2005). V České republice byl zaznamenán výskyt celkem 10 druhů mechovek (Korábek, 2009). Za potenciální hostitele *T. bryosalmone* byly v minulosti označeny například *Hyallinella punctata, Plumatella fungosa, Plumatella repens, Cristatella mucedo* nebo *Fredericella sultana* (Tops and Okamura 2005, Hartikainen et al. 2014, Hrabcová 2015).

Metodika

Pro testování eliminace mechovek z rybochovných zařízení byly vybrány tři v rybářství běžně používané chemické prostředky formaldehyd, Persteril (32-36 % kyselina peroxyoctová, 5-12 % peroxid vodíku, max. 25 % kyselina octová), Savo Original (1-5 % chlornan sodný a 0,1-1 % hydroxid sodný). Informace o působení těchto látek na mechovky v literatuře zcela chybí. Testy byly provedeny v laboratorních podmínkách na dvou modelových druzích *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*. Kolonie *P. emarginata* pocházely z modelového teplovodního recirkulačního systému. Kolonie *C. mucedo* pocházely z nádrže z lokality na Vysočině, která je zdrojem vody pro intenzivní chov lososovitých ryb, kde byl v minulých letech prokázán výskyt PKD. Kolonie mechovek byly odebírány seškrabem z pevných povrchů pomocí skalpelu. Byly přeneseny do laboratoře, kde byly rozděleny na části o velikosti cca 5 cm^2.

Následně byly přemístěny na Petriho misky, zality odstátou vodovodní vodou a ponechány 24 hodin k aklimatizaci. Poté byla pod optickým mikroskopem zkontrolována jejich aktivita a následně byly vystaveny působení koncentrační řady chemikálií.

Zvoleno bylo vždy 11 koncentrací v procentuální řadě 1; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125; 0,0063; 0,0031; 0,0016; 0,0008. Každá koncentrace měla 5 opakování a kontrolní vzorek, kde byla použita pouze voda. Po aklimatizaci byla vyměněna voda za příslušnou koncentraci roztoku testované látky o objemu 10 ml. Mechovky byly vystaveny působení látky po dobu 30 minut, poté byl roztok vyměněn za vodu. Následně byly kolonie ponechány 1 hodinu bez manipulace, pak byla provedena první kontrola. Po další hodině byla provedena druhá kontrola. Při obou kontrolách bylo na misce náhodně vybráno 50 zoidů, u kterých byla sledována jejich reakce. Živí zoidi, kteří nevykazovali žádné známky narušení, byli spočítáni.

Výsledky

První testovanou látkou byl přípravek Savo Original s účinnou látkou chlornanem sodným. Při jeho 30 minutovém působení na kolonie druhu P. emarginata byl zjištěn úhyn všech zoidů při koncentracích vyšších než 0,025 %. Při koncentraci 0,0016 % a nižší již nebyly pozorovány u *P. emarginata* žádné změny v reakcích, živočichové byli všichni aktivní. Kolonie druhu *C. mucedo* byly přípravkem Savo usmrceny při výrazně vyšších koncentracích tj. 0,1 % a více. Při koncentracích nižších než 0,0125 % již nebyly na zoidech *C. mucedo* pozorovány žádné změny. Po přepočtení letální koncentrace chlornanu sodného pro mechovky na $mg.l^{-1}$ vychází u druhu *P. emarginata* 0,93 $mg.l^{-1}$ a u C. mucedo je to 3,72 $mg.l^{-1}$, tyto koncentrace výrazně převyšují letální koncentrace pro ryby. Toxicita chlornanu sodného pro pstruhy (*Oncorhynchus mykiss*) je udávána 96 h LC50 0,2 $mg.l^{-1}$ (Bezpečnostní list, Penta 2012).

Dalším testovaným přípravkem byl Persteril. Při testech usmrtil celou kolonii druhu P. emarginata již při koncetracích 0,0031 % a vyšších. U druhu *C. mucedo* způsobil Persteril usmrcení kolonií při koncentracích 0,0063 % a vyšších. V následné variantě (koncentrace 0,0031 %) již nebyly na zoidech *C. mucedo* pozorovány žádné změny v aktivitě a reakce všech kontrolovaných jedinců byly normální. Letální dávka kyseliny peroctové, která je hlavní složkou přípravku Persteril, byla pro druh *P. emarginata* 2,37 $mg.l^{-1}$ a pro *C. mucedo* 4,75 $mg.l^{-1}$, obě tyto hodnoty několikanásobně překračují udávané letální koncentrace pro ryby. Toxicita kyseliny peroctové pro druh *O. mykiss* je udávána 96 h LC50 0,53 $mg.l^{-1}$ (Bezpečnostní list, EuroŠarm 2015).

Poslední testovanou látkou byl formaldehyd. Jeho použití způsobilo úhyn celé kolonie *P. emarginata* při koncentracích 0,0063 % a vyšších. Při koncentraci 0,0008 % byla malá část zoidů imobilizována, ale v poměrně krátké době se i tito zoidi zregenerovali. Zoidi druhu *C. mucedo* byli odolnější, usmrceni byli při koncentracích 0,0125 % a vyšších. Při koncetraci 0,0063 % již nebyl zaznamenán žádný

vliv. Letální dávka formaldehydu byla v našem případě pro druh *P. emaginata* 0,69 mg.l^{-1} a pro *C. mucedo* 1,38 mg.l^{-1}, tyto hodnoty nejsou pro ryby a další bezobratlé při krátkodobém působení letální. Toxicita formaldehydu pro pstruha duhového (*O. mykiss*) je udávána 96 h LC50 24 mg.l^{-1} (Bezpečnostní list, Penta 2004). Formaldehyd jako jediný z testovaných prostředků usmrtil kolonie mechovek při nižších koncentracích, než jsou letální koncentrace pro lososovité ryby. Nicméně pokud jsou lososovité ryby vystaveny vysokým koncentracím nebo je působení formaldehydu dlouhodobé, může způsobit pokles hustoty buněk sliznice (Buchmann et al. 2004). Vysoké koncentrace formaldehydu mohou u pstruha duhového způsobit změny v srdeční činnosti (Tkachenko et al. 2013). Důležitou otázkou při použití formaldehydu v akvakultuře je jeho působení na bakteriální společenstvo biofiltru. Tato látka zjevně nemá žádný negativní vliv na bakterie oxidující amoniak ani při koncentraci 90 mg.l^{-1}, nicméně bylo pozorováno významné ovlivnění nitrifikačních bakterií při koncentracích vyšších než 40 mg.l^{-1} (Keck and Blanc 2002). Další studie prokázala pro smíšenou bakteriální kulturu 120h EC50 34,1 mg.l^{-1} (Tisler and Zagorc-Koncan 1997).

Z výsledků vyplývá, že kolonie druhu *C. mucedo* odebrané z volných vod byly výrazně odolnější než kolonie *P. emarginata* pocházející z modelového recirkulačního zařízení. Vzhledem k tomu, že pro pracovníky v praxi by mohlo být obtížné rozlišit jednotlivé druhy mechovek, byly vzaty v úvahu vyšší hodnoty potřebné k usmrcení odolnějšího druhu *C. mucedo*.

Po zhodnocení z ekonomického hlediska je nejlevnější variantou (30 Kč/m^3) použití přípravku Savo Original, nicméně koncentrace (0,1% roztok) potřebná k usmrcení mechovek je letální i pro ryby. Proto lze toto řešení doporučit pro zařízení, ve kterém v okamžiku zásahu ryby nejsou. Nejdražší variantou (37,4 Kč/m^3) byl formaldehyd, který usmrtil mechovky při koncentracích (0,0125 % roztok), tato koncentrace je nižší než letální koncentrace pro ryby. Proto lze pro zařízení s rybami doporučit použití právě této látky. Vzhledem k tomu, že rozdíly cen pro malé objemy vody mohou být na první pohled minimální a proto zavádějící, byly přepočítány náklady na usmrcení mechovek i pro modelové zařízení o objemu 1000 m^3. V zařízení této velikosti se výsledná cena jednorázové desinfekce, která spolehlivě usmrtí mechovky, pohybuje v řádu desetitíců korun (Tabulka 1).

Tabulka 1 Náklady na eliminaci mechovek v modelovém systému o objemu 1000 m^3 a potřebné objemy přípravků na 1 m^3

		Savo Original (konc.)	Persteril (36%)	formadehyd (36-38%)
P. emarginata	náklady na 1000 m^3 (Kč)	7 500	17 700	18 700
	objem přípravku na 1m^3 (ml)	250	86,3	170
C. mucedo	náklady na 1000 m^3 (Kč)	30 000	35 400	37 400
	objem přípravku na 1m^3 (ml)	1 000	172,5	340

Závěr

Pro testování eliminace mechovek (Bryozoa) byly použity různé koncentrace přípravků, které se běžně používají v rybářské praxi pro čištění a dezinfekci zařízení (Savo, Persteril, formaldehyd). Mechovky jsou poměrně citliví živočichové, použité přípravky zapříčinily úhyn celých kolonií druhu *Plumatella emarginata* při těchto koncentracích: Savo 0,025 %, Persteril 0,0031 % a formaldehyd 0,0063 %, u druhu *Cristatella mucedo*: Savo 0,1 %, Persteril 0,0063 % a formaldehyd 0,0125 %. Z výsledků vyplývá, že kolonie *C. mucedo* jsou vůči těmto přípravkům odolnější a regenerace je výrazně rychlejší než kolonie *P. emarginata*. Formaldehyd jako jediný z testovaných přípravků usmrcoval kolonie mechovek při nižších koncentracích, než jsou letální koncentrace pro lososovité ryby. Použití formaldehydu pro úplnou eliminaci mechovek vychází jako nejdražší varianta, při koncentraci 1,38 mg.l-1, by se cena pohybovala v přibližné výši 37,5 tis. Kč. Savo a Persteril byly pro mechovky letální v takových koncentracích, které jsou smrtelné i pro lososovité ryby. Použití Sava bylo vyhodnoceno jako nejlevnější varianta, nicméně ho lze využít pouze pro desinfekci systému, který by byl dočasně bez ryb.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Interní grantové agentury AF Mendelu No. IP_12/2016 a projektu NAZV QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“.

Použitá literatura

Buchmann, K., Bresciani, J., Jappe, C. 2004. Effects of formalin treatment on epithelial structure and mucous cell densities in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), *Journal of fish diseases*, 27, 99–104.

Clifton-Hadley, R. S., Bucke, D., Richards, R. H. 1984. Proliferative kidney disease of salmonid fish: a review. *Journal of Fish Diseases*, 7, 363–377.

El-Matbouli, M., Hoffmann, R. W. 2002. PKD and water quality. *Journal of Fish Diseases*, 25, 459–46.

EuroŠarm. 2015. *Bezpečnostní list*. [Online]. Available at: http://www.profarm.cz/imgs/products/datacon/persteril_15.pdf. [2016-08-21].

Hartikainen, H., Gruhl, A., Okamura, B., 2014. Diversification and repeated morphological transitions in endoparasitic cnidarians (Myxozoa: Malacosporea). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 76, 261–269.

Hedrick, R. P., Mcconnell, E., de Kinkelin, P. 1993. Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3: 277–290.

Hrabcová, M. 2015. B*iology, life cycle and phylogeny of malacosporeans in fish and bryozoans.* Master thesis. Faculty of Science. University of South Bohemia in České Budějovice, 60 s.

Keck, N., Blanc G. 2002. Effects of formalin, chemotherapeutic treatments on biofilter efficiency in a marine recirculating fish farming systém. *Aquatic living resources,* 5, 361–370.

Korabek, O., 2009. Pásnice, mechovky a mechovnatci České republiky. OKA 7, 1–6

Lom, J., Dykova, I. 2006. Myxozoan genera: definiton on notes and taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol*., 53, 1–36.

Ministerstvo zemědělství České republiky, Evropský rybářský fond, 2014. Víceletý strategický plán pro akvakulturu. MZe ČR, Praha. 101 s.

Okamura, B., Wood, T. S. 2002. Bryozoans as hosts for Tetracapsula bryosalmonae, the PKX organism. *Journal of Fish Diseases*, 25, 469–475.

Penta. 2004. *Bezpečnostní list.* [Online]. Available at: http://www.pstruharstvi.cz/soubory/latky-chovu/formaldehyd.pdf. [2016-08-21].

Penta. 2012. *Bezpečnostní list*. [Online]. Available at: http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/ch/bezplist_197.pdf. [2016-08-21].

Svobodová , Z. 2007. *Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb*. 4. vyd. Informatorium, Praha

Tisler, T., Zagorc-Koncan, J. 1997. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water air and soil pollution*, 97, 315–322.

Tkachenko, H., Kurhaluk, N., Grudniewska, J. 2013. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defences as indicators of different disinfectants exposure in the heart of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum). *Aquaculture research*, 46, 679–689.

Tops, S., Okamura, B. 2005. Malacosporean parasites (Myxozoa, Malacosporea) of freshwater bryozoans (Bryozoa, Phylactolaemata): a review. *Denisia*, 16, 287–298.

Wood, T. S. 2005. Study methods for freshwater bryozoans. *Denisia,* 16, 103–110.

VLIV ODLIŠNÝCH KRMIV NA MARKERY OXIDATIVNÍHO STRESU U PSTRUHA DUHOVÉHO *(ONCORHYNCHUS MYKISS)*

K. Jánová[1], J. Mareš[2], M. Palíková[1], I. Papežíková[1], L. Bláhová[3]

[1]Ústav ekologie a chorob zvěř, ryb a včel, VFU Brno
[2]Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita v Brně
[3]Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí, Masarykova univerzita Brno

V intenzivních chovech ryb mohou ryby často podléhat poměrně velkému stresu. Následkem zvýšené míry stresu je snížení odolnosti ryb vůči chorobám a také zvýšení míry oxidačního stresu. Při porušení dynamické rovnováhy mezi vznikem a zánikem reaktivních forem kyslíku nastává pro buňku stresová situace. Reaktivní formy kyslíku mohou způsobovat oxidaci mastných kyselin v lipidech, narušovat strukturu proteinů a DNA (Lushchak, 2011).

Důležitým parametrem oxidativního stresu je změna koncentrace nízkomolekulárních látek. U nich je jako nejčastější marker stanovován glutation (GSH) a jeho oxidovaná forma (GSSG). Glutation je nejvýznamnější intracelulární antioxidant neenzymové povahy, je součástí nejrozšířenějšího redoxního systému eukaryot.

Jednou z častých chorob v intenzivních chovech lososovitých ryb je furunkulóza onemocnění způsobené gramnegativní bakterií *Aeromonas salmonicida*. Vnímavost lososovitých ryb není stejná, pstruh obecný a siven americký jsou vnímavější než pstruh duhový. Patogeny se lépe rozvíjí a šíří při vyšších teplotách vody (optimálně 15-21°C), v organicky znečištěné vodě, při vysoké hustotě rybí obsádky, oslabení ryb apod. Furunkulóza působí v chovech značné škody. V posledních letech je patrná snaha o snížení objemu používaných antibiotik v chovech hospodářských zvířat, včetně ryb. Hledají se alternativní způsoby a možnosti, jak zvýšit rezistenci ryb vůči chorobám. K posílení nespecifické imunitní odpovědi ryb je možno použít krmiva s přídavkem imunostimulantů. Prokázané zvýšení odolnosti bylo zaznamenáno i u pstruha duhového (Sharifuzzaman & Austin, 2009). Zvýšení rezistence vůči furunkulóze u pstruha duhového po experimentální challenge *Aeromonas salmonicida* je popisováno i dalšími autory (Irianto & Austin, 2002; Kim & Austin, 2006).

Naším cílem bylo zhodnocení markerů oxidativního stresu GSH a GSSG ve tkáních pstruha duhového po krmení odlišnými krmivy – s obsahem imunostimulantů nebo se zvýšeným obsahem rostlinných komponent, oproti krmivu standardnímu. Oxidativní stres byl hodnocen i po experimentální challenge *Aeromonas salmonicida*. U krmiva s přídavkem imunostimulantů se očekávalo snížení míry oxidativního stresu.

Jedinci pstruha duhového byli odchováváni v recirkulačním zařízení na Mendelově univerzitě v Brně ve třech chovných nádržích o objemu 1000 litrů. K filtraci vody v nádržích byl použit biofiltr Nexus 310 s objemem filtrační náplně zhruba 300 l a také zařízení k dezinfekci vody (kombinace ozónu a UV-C lampy – Redox). Voda v nádržích byla saturována kyslíkem na průměrnou hodnotu 8,17 $mg.l^{-1}$ tj. 85,7 %, teplota vody byla průměrně 16,6°C, hodnota pH 7,76; $N\text{-}NH_4^+$ 0,06; $N\text{-}NO_2^-$0,22; Cl- 70,67 $mg.l^{-1}$ (obsah chloridů sledován z důvodu stanovení tzv. „chloridového čísla“). Do nádrží byly ryby nasazeny začátkem května 2015 a po adaptaci byl 12. 5. 2015 zahájen odchov s třemi různými krmivy.

Jednalo se o krmiva:

1. 920 – standardní extrudované krmivo pro chov lososovitých ryb – BioMar EFICO Enviro 920, velikost peletek 4,5 mm

2. Focus – standardní extrudované krmivo BioMar EFICO Enviro 920 doplněné imunostimulanty, velikost peletek 4,5 mm
3. Advance – extrudované krmivo pro chov lososovitých ryb BioMar EFICO Enviro 920 Advance, velikost peletek 4,5 mm

Krmivo Advance je svým složením a živinami podobné krmivu 920, ale obsahuje vyšší podíl rostlinných komponent a nižší podíl rybí moučky (pod 10 %). Intenzita krmení byla řízená doporučením dodavatele krmiv – dánská firma BioMar a pohybovala se v rozmezí 1,26-1,28 % hmotnosti ryb. Krmení bylo prováděné 3x denně. Odchov byl ukončen po 28 dnech (9. 6. 2015), ryby byly poté převezeny na VFU Brno, kde byly následně podrobeny challenge bakterií *Aeromonas salmonicida* v dávce 2.10^2 CFU na rybu. Ryby ze všech tří variant byly infikovány intraperitoneálně a sledovány po dobu 20 dnů od aplikace. Po 20 dnech byla rybám odebrána krev z ocasních cév a ryby byly usmrceny. Následně byly odebrány vzorky tkání jater, ledvin, střev a svaloviny. Střeva byla propláchnuta a zbavena vnitřního obsahu. Vzorky tkání byly zamraženy a skladovány při teplotě -85°C v mrazicím boxu.

Analýza obsahu redukovaného glutationu GSH a oxidovaného glutationu GSSG proběhla v laboratořích Centra pro výzkum toxických látek v prostředí, Masarykova univerzita, Brno. Zmražené tkáně byly krájeny na ledu a homogenizovány v roztoku KCl 1,15% ledové s EDTA II v koncentraci 10mg/100µl. Principem metody je reakce thiolselektivní reagencie (DTNB = 2,2-dinitro-5,5-dithiobenzoová kyselina) s volnými -SH skupinami v neutrálním nebo mírně zásaditém pH v přítomnosti chelatačního činidla, které zároveň zabraní oxidaci GSH během extrakce a analýzy. Volné -SH skupiny jsou ve vzorku přítomny v molekule redukovaného glutationu - GSH. Redukovaný i oxidovaný glutation je po konjugaci redukované formy a vysrážení proteinů thiosalicylovou kyselinou stanoven pomocí LC/MS/MS (Waters). Výsledné koncentrace byly uvedeny v $nmol.g^{-1}$ tkáně.

Ve vzorcích homogenátů tkání byly taktéž stanoveny proteiny postupem vycházejícím z návodu výrobce kitu „*DC (detergent compatible) protein assay*“ (Biorad, USA) s využitím standardu séra bovinního albuminu. Kalibrační řada byla připravena v rozmezí 0-5 $mg.ml^{-1}$ proteinu.

Ze stanovení obsahu proteinů byla zjištěna průměrná koncentrace proteinů [$mg.g^{-1}$ tkáně] v kontrolních skupinách u všech orgánů. U jater (159,3±36,8) a svalu (142,4±56,7) byl nejvyšší obsah proteinu u krmiva 920, u ledvin (182,4±54,3) a střeva (90,6±16,2) u krmiva Advance.

Získaná data byla vyhodnocena pomocí programu STATISTICA 12. Při srovnání kontrolních skupin ryb u krmiv Focus a Advance s krmivem 920 pomocí jednocestné analýzy ANOVA byly zjištěny změny v koncentracích GSH a GSSG. V analýze orgánu játra došlo k výraznému nárůstu koncentrace GSH [nmol.g-1] u krmiva Focus o 42 % ($p < 0,05$) a u krmiva Advance o 85 % ($p < 0,05$) oproti krmivu 920. Koncentrace GSSG [$nmol.g^{-1}$] poklesla o 55 % ($p < 0,05$) u krmiva Advance oproti krmivu 920 ve sledovaných kontrolách. Při sledování poměru GSH/GSSG byl u krmiva Advance nárůst o 189 %
($p < 0,05$) oproti kontrolnímu krmivu 920.
U ledvin významně narostla koncentrace GSH u krmiva Focus o 23 % ($p < 0,05$) a koncentrace GSSG u krmiva Focus o 66 % ($p <0,05$). U krmiva Advance byl naopak v koncentraci GSSG zaznamenán pokles o 35 % ($p < 0,05$) oproti kontrolnímu krmivu 920. Poměr koncentrací GSH/GSSG se zvýšil u krmiva Advance o 84 % ($p < 0,05$).

Ve tkáni střeva u krmiva Advance vzrostla koncentrace GSH o 23 % ($p < 0,05$), koncentrace GSSG o 38 % ($p < 0,05$) poklesla a poměr GSH/GSSG se zvýšil o 120 % ($p < 0,05$). Významné změny v koncentracích GSH, GSSG a poměrech GSH/GSSG jsou uvedeny v Tabulce 1.

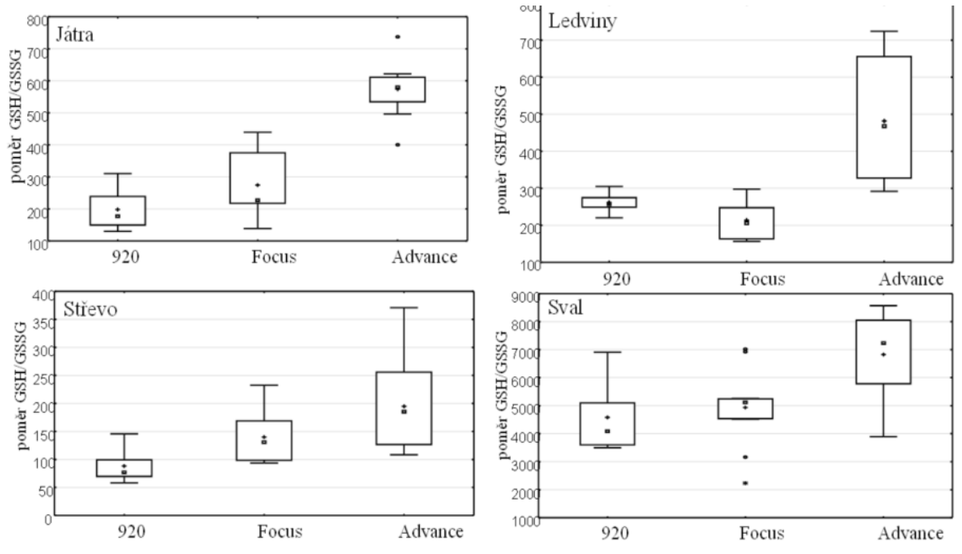
V koncentracích GSH a GSSG u krmiv Focus a Advance ve svalovině nebyly významné rozdíly oproti kontrolnímu krmivu 920, což bylo způsobeno velkou variabilitou dat.

Srovnání významných rozdílů v koncentracích GSH, GSSG a v poměru GSH/GSSG u jednotlivých krmiv a tkání je uvedeno v Obrázek 1.

Tabulka 1 Srovnání významných změn v koncentracích GSH a GSSG a poměru GSH/GSSG u kontrol krmiv Focus a Advance ve srovnání s kontrolním krmivem 920.

		GSH [$nmol.g^{-1}$]	GSSG [$nmol.g^{-1}$]	GSH/GSSG
Játra	Focus	↑ 42 %	x	x
	Advance	↑ 85 %	↓ 55 %	↑ 189 %
Ledviny	Focus	↑ 23 %	↑ 66 %	x
	Advance	x	↓ 35 %	↑ 84 %
Střevo	Focus	x	x	x
	Advance	↑ 23 %	↓ 38 %	↑ 120 %

Obrázek 1 Srovnání poměrů GSH/GSSG u kontrol krmiv 920, Focus a Advance.



V další části experimentu byl hodnocen vliv challenge bakterie *Aeromonas salmonicida* na koncentrace GSH a GSSG u krmiv 920, Focus a Advance v jednotlivých orgánech pstruha duhového – jater, ledvin, střev a svalu. V programu STATISTICA 12 byly vyloučeny odlehlé hodnoty a analýzou dat byly pomocí t-testu

skupiny kontrol a challenge srovnány pro jednotlivé orgány. V Tabulce 2 jsou uvedeny významné rozdíly mezi kontrolami a challenge u analyzovaných markerů u jednotlivých krmiv. V játrech bylo analyzováno zvýšení koncentrace GSH v challenge u krmiva 920 o 12 % ($p < 0,05$).

U ledvin došlo taktéž ke zvýšení koncentrace GSH v challenge oproti kontrole o 19 % ($p < 0,05$). U koncentrace challenge GSSG v játrech došlo u krmiva Focus ke snížení o 38 % ($p < 0,05$), v ledvinách o 57 % ($p < 0,05$) a ve svalu o 53 % ($p < 0,05$).

Poměr GSH/GSSG se zvýšil u jater pro krmivo Focus o 61 % ($p < 0,05$), u ledvin pro krmivo 920 o 44 % ($p < 0,05$) a pro krmivo Focus o 167 % ($p < 0,05$). Ve střevě došlo ke zvýšení poměru GSH/GSSG o 51 % ($p < 0,05$) pro krmivo 920 a ve svalu k nárůstu o 95 % ($p < 0,05$) pro krmivo Advance. V Tabulce 3 jsou pro úplnost uvedeny průměry, mediány, minimální a maximální hodnoty pro každý sledovaný marker u jednotlivých kontrol a challenge ve studovaných orgánech.

Tabulka 2 Srovnání významných změn v koncentracích GSH a GSSG a poměru GSH/GSSG v jednotlivých orgánech mezi kontrolami a challenge Aeromonas salmonicida u krmiv 920 (K1, CH1) Focus (K2, CH2) a Advance (K3, CH3).

		GSH [nmol.g^{-1}]	GSSG [nmol.g^{-1}]	GSH/GSSG
játra	K1xCH1	↑ 12 %	x	x
	K2xCH2	x	↓ 38 %	↑ 61 %
ledviny	K1xCH1	x	x	↑ 44 %
	K2xCH2	↑ 19 %	↓ 57 %	↑ 167 %
střevo	K1xCH1	x	x	↑ 51 %
sval	K3xCH3	x	↓ 53 %	↑ 95 %

Jak bylo uvedeno, GSH udržuje redoxní rovnováhu buněk, hraje důležitou roli v metabolismu i detoxifikaci a oproti oxidované formě GSSG v buňkách obvykle převládá. Poměr obou těchto forem (GSH/GSSG) je považován za indikátor buněčného stresu. Tento poměr je obvykle konstantní. Při působení stresových faktorů dochází k oxidaci GSH na GSSG a poměr GSH/GSSG se snižuje. Ke zvýšení koncentrace GSH u ryb může docházet po stresovém zatížení, například po expozici toxickým látkám se koncentrace zvyšuje v játrech (Haluzová et al., 2011; Menezes et al., 2016; Stephensen, Sturve, & Förlin, 2002). V některých případech dochází ke zvýšení koncentrace GSH, ale koncentrace GSSG zůstane nezměněna nebo se sníží. Tyto změny v koncentracích GSH a GSSG vedou ke zvýšení poměru GSH/GSSG a jsou způsobeny zvýšenou aktivitou enzymů syntetizujících GSH – tím dochází k obraně buňky před oxidativním stresem (Monteiro, Rantin, & Kalinin, 2010). Změny v aktivitě enzymů na bázi GSH a změny v obsahu GSH mohou být užitečné pro detekci změny redoxního stavu u ryb. (Stephensen et al., 2002). Ke snižování aktivity antioxidačních enzymů jako glutation reduktázy (GR) může docházet po vystavení stresovému faktoru (Tkachenko, Kurhaluk, & Grudniewska, 2014). V naší studii docházelo k signifikantnímu zvýšení poměru GSH/GSSG oproti krmivu 920 v kontrolní skupině krmiva Advance u jater (189 %), ledvin (84 %) i střev (120 %). U tohoto krmiva je poměr GSH/GSSG vyšší, než u kontrolního krmiva 920 nebo krmiva s imunostimulanty Focus v kontrolních skupinách. Zvýšením poměru GSH/GSSG krmivo Advance významně zvyšuje oxidativní stres buněk jater, střev a ledvin u pstruha duhového.

		GSH [nmol.g^{-1}]					GSSG [nmol.g^{-1}]					poměr GSH/GSSG [nmol.g^{-1}]				
		Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev
játra	K1	10	1360,98	1388,50	1137,94	1484,82	121,49	10	7,45	7,19	4,73	11,25	2,27	10	198,60	177,73	130,10	310,63	61,39
	CH1	9	1525,72	1540,45	1436,40	1697,20	84,02	10	6,64	6,83	3,14	10,13	1,99	9	239,00	221,91	153,48	363,49	62,67
	K2	10	1934,66	1964,26	1364,21	2232,60	274,14	10	7,86	8,66	4,29	10,38	2,36	10	274,19	227,26	138,62	439,35	104,64
	CH2	10	2207,86	2137,80	1675,03	2894,86	381,08	10	4,91	5,21	2,76	6,47	1,45	9	442,11	443,20	309,93	599,06	104,11
	K3	8	2515,95	2504,38	2160,20	2993,23	251,67	8	4,08	3,92	2,52	5,26	0,91	8	573,74	579,88	400,91	737,58	97,24
	CH3	8	2530,22	2436,72	2235,16	3068,37	282,82	9	4,41	4,17	1,26	9,98	2,61	7	531,80	485,76	355,21	771,05	169,17
		Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev
ledviny	K1	9	1448,89	1384,31	1300,83	1693,27	151,79	10	5,30	5,11	2,33	7,74	1,67	8	261,23	257,81	220,29	305,31	25,30
	CH1	10	1514,93	1516,05	1299,78	1746,44	147,66	10	4,06	3,88	2,35	6,25	1,28	9	374,91	375,32	240,85	510,24	79,92
	K2	10	1777,32	1812,23	1390,99	2057,68	198,34	10	8,80	9,33	4,96	12,43	2,26	10	213,89	205,95	156,62	297,89	50,49
	CH2	10	2118,81	2004,26	1797,14	2583,08	278,00	10	3,82	3,48	2,07	6,54	1,51	8	571,76	540,70	371,68	924,42	169,07
	K3	8	1458,87	1503,41	1102,34	1650,19	173,13	9	3,46	3,30	1,66	5,43	1,39	9	481,53	468,13	291,96	724,04	163,57
	CH3	9	1607,45	1625,32	1353,26	1942,78	205,10	10	3,67	3,83	1,50	5,95	1,37	10	510,17	444,72	288,64	969,93	224,86
		Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev
střevo	K1	8	931,06	956,34	732,60	993,72	84,73	10	11,45	11,33	5,06	16,73	3,51	10	88,42	76,97	58,07	145,76	27,40
	CH1	7	925,50	870,48	732,92	1117,01	136,66	8	8,20	9,31	3,32	12,17	3,39	8	133,63	103,10	85,38	251,94	59,24
	K2	8	1013,89	998,20	916,82	1138,48	88,23	9	7,38	6,85	3,95	11,69	2,51	10	140,04	130,75	93,60	232,61	45,74
	CH2	10	1050,43	1079,55	652,98	1329,80	216,47	9	9,54	9,50	6,33	14,54	3,21	9	125,02	121,74	69,72	177,84	35,42
	K3	8	1142,00	1142,98	1068,58	1227,09	54,80	9	7,08	6,61	2,91	11,56	2,89	9	194,73	185,44	108,31	370,76	89,02
	CH3	10	1182,20	1154,98	1012,55	1481,49	158,75	10	6,39	5,72	4,14	10,67	2,41	10	201,38	200,14	119,01	296,12	63,48
		Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Std. Dev
sval	K1	8	276,75	278,06	254,49	305,96	20,15	10	0,07	0,07	0,03	0,09	0,02	10	4585,65	4087,27	3498,37	6907,41	1268,04
	CH1	10	292,07	302,65	201,70	355,81	50,23	9	0,06	0,07	0,02	0,10	0,03	10	5408,12	4499,48	811,77	10892,85	2914,28
	K2	10	286,62	265,21	196,07	446,33	78,69	10	0,06	0,06	0,02	0,11	0,03	9	4935,62	5111,21	2234,91	7020,72	1545,01
	CH2	10	299,19	303,59	213,51	383,66	50,86	10	0,06	0,06	0,02	0,12	0,04	9	5220,23	4825,43	2164,97	8925,07	2234,40
	K3	9	254,49	248,83	218,06	304,44	29,42	8	0,03	0,03	0,02	0,05	0,01	8	6823,91	7235,62	3892,46	8566,03	1608,33
	CH3	9	226,31	239,93	146,42	293,59	53,25	8	0,02	0,02	0,01	0,05	0,01	9	13343,12	13574,74	4180,25	23154,19	6529,43

Tabulka 3 Souhrnné srovnání hodnot koncentrací GSH, GSSG a poměru GSH/GSSG pro všechny varianty kontrol a challenge Aeromonas salmonicida. Červeně označené jsou významné rozdíly mezi kontrolami (K) a challenge (CH) (t-test, $p < 0,05$). Krmivo 920 (K1, CH1), krmivo Focus (K2, CH2), krmivo Advance (K3, CH3).

U krmiva Focus s obsahem imunostimulantů se koncentrace GSH v játrech (42 %) a ledvinách (23 %) významně zvyšovala. Účinek imunostimulantů na zvýšení aktivity enzymů glutation-S-transferázy (GST) a glutation reduktázy (GR) u pstruha duhového byl prokázán již jinými autory (Giannenas et al., 2014). U vyššího obsahu antioxidačních enzymů lze přepokládat i vyšší antioxidační schopnost a vyšší koncentraci GSH a tím potenciální ochranu organismu před oxidativním stresem (Giannenas et al., 2014; Ozório et al., 2016). Hodnoty poměrů u kontrolních skupin GSH/GSSG u krmiva Focus a krmiva 920 se významně neliší a proto lze předpokládat nižší zátěž redoxního systému buněk.

Ve srovnání kontrol a challenge *Aeromonas salmonicida* vzrostl významně poměr GSH/GSSG u krmiva 920 v ledvinách a střevě a u krmiva Focus v játrech a ledvinách. Při zvýšeném poměru GSH/GSSG u krmiva Focus s obsahem imunostimulantů očekáváme aktivaci redoxního systému a souvisejících enzymů, což znamená vyšší syntézu GSH a pokles GSSG a vyšší míru oxidativního stresu. Zvýšenou odolnost pstruha duhového vůči furunkulóze při experimentu s krmivem s obsahem imunostimulantů pozorovali autoři (Irianto & Austin, 2002), kdy se zvyšovala aktivita enzymu GST. Tento předpoklad odpovídá využití probiotik v krmivu u pstruha duhového ke zvýšení rezistence k furunkulóze. Ve tkáni střeva nedocházelo ke zvýšení poměru GSH/GSSG u krmiva Focus, ale u krmiva 920 došlo k významnému nárůstu o 51 %. Lze předpokládat, že ve střevě imunostimulanty u krmiva Focus pozitivně ovlivňují redoxní stav buněk a tím snižují míru oxidativního stresu.

Shrnutí:

1) Krmivo Advance se zvýšeným obsahem rostlinných komponent vykazovalo významné změny koncentrací markerů oxidativního stresu GSH, GSSG ve srovnání s kontrolním krmivem 920.

2) Ve tkáni střeva nebyl u krmiva Focus s obsahem imunostimulantů pozorován významný rozdíl v poměru GSH/GSSG mezi kontrolní skupinou a skupinou challenge Aeromonas salmonicida. U kontrolního krmiva 920 naopak ke zvýšení poměru GSH/GSSG docházelo. Lze předpokládat, že imunostimulanty mají příznivý vliv na buňky střevní tkáně a pozitivně ovlivňují jejich redoxní stav.

3) Prezentované výsledky představuji předběžné výsledky po hodnocení jednoho vybraného markeru oxidativního stresu. Oxidativní stres je komplexní a je potřeba zhodnotit více specifických markerů. Výstupem studie bude dále analýza markerů lipidní peroxidace a zhodnocení hematologických parametrů u uvedených orgánů po ovlivnění odlišnými krmivy a challenge Aeromonas salmonicida.

Seznam literatury a doporučená literatura je na vyžádání dostupná u autorů.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“.

Tato práce byla podpořena Výzkumnou infrastrukturou RECETOX (projekt Ministerstva výchovy České republiky LM2015051), a projektu LO1214.

VLIV KRMNÉ STRATEGIE A SYSTÉMU CHOVU NA KVALITU MASA LOSOSOVITÝCH RYB.

Jan Mareš[1], Eva Poštulková[1], Jiří Vlasák[2]

[1]Mendelova univerzita v Brně, Oddělení rybářství a hydrobiologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno
[2]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Genetické rybářské centrum, Nad Velkou Podvinicí 1337, Vodňany II

Rybí maso je bezesporu považováno za kvalitní potravinu s vysokou nutriční hodnotou a stravitelností. Často je zařazováno mezi potraviny, které mohou zejména díky složení spektra mastných kyselin příznivě ovlivnit zdravotní stav konzumenta. Podmínky prostředí spolu se zvolenou krmnou strategií rozhodujícím způsobem ovlivňují kvalitu produkovaného rybího masa. Vedle rybího druhu a věku ryb tyto vnější faktory rozhodují o jejich nutriční hodnotě.

S vývojem kompletních krmných směsí tak dostává chovatel do rukou účinný nástroj na ovlivnění kvality produkovaných ryb. Jeho cílem je dosáhnout rychlého růstu ryb při udržení příznivé hodnoty krmných nákladů, dobrého zdravotního stavu a standardní kvality produkované potraviny. Volbou krmiva pak určuje obsah proteinů a energie, které dodává chovaným rybám. Vysoký obsah zejména neproteinové energie ovlivňuje obsah tuku ve svalovině i na vnitřnostním komplexu a následně i výtěžnost ryb. Zvolená intenzita krmení přímo má přímý dopad na intenzitu růstu a dosaženou hodnotu krmného koeficientu. Sekundárně ovlivňuje i obsah tuku v těle ryby. Komponenty použité v krmných směsích přímo ovlivňují kvalitu rybího masa, složení tuku, tedy i spektrum mastných kyselin a mohou ovlivnit i senzorické parametry. Některé doplňky krmných směsí cíleně ovlivňují konkrétní parametry (nejčastěji spektrum mastných kyselin nebo barvu rybího masa).

Rozdílné podmínky prostředí, zejména teplota vody a obsah rozpuštěného kyslíku, ovlivňují intenzitu metabolizmu ryb, intenzitu příjmu potravy a její využití. Obdobně i zatížení prostředí organickými látkami, zplodinami metabolismu, zejména sloučeninami dusíku, působí na organismus chovaných ryb jako zátěž a může negativně ovlivnit příjem a využití potravy včetně vyšší vnímavosti vůči původcům onemocnění. Některé z parametrů mohou ovlivnit i senzorické vlastnosti. Působí-li na ryby stres, dochází ke zvyšování obsahu vody v jejich svalovině. Každý chovný systém má svá specifika a v kombinaci s použitou krmnou strategií dochází ke tvorbě produktu se specifickými vlastnostmi, rybího masa s typickou nutriční hodnotou. Obdobné systémy mohou mít obdobnou kvalitu masa produkovaných ryb, obdobně chovatelé využívají stejná krmiva apod. Jako je rozdílná kvalita masa kapra z různých oblastí, z jednotlivých rybníků a při použití různé úrovně a způsobu přikrmování, tak jsou rozdílné i hodnoty masa pstruhů pocházející od různých chovatelů.

Hodnocení nutriční úrovně produkovaných lososovitých ryb se na našem pracovišti věnujeme již řadu let. Pro potvrzení uvedených skutečností jsme pro tento příspěvek hodnotili nutriční úroveň ryb pocházející z různých zdrojů a v jednom systému jsme ověřovali vliv komponentního složení krmiva, které jako identické nabízí jeden z jeho výrobců.

Analyzované ryby tržní hmotnosti v počtu vždy deset kusů pocházely z pěti lokalit využívající rozdílné technologie chovu, tedy rybniční chov, systémy průtočné i recirkulační, systémy využívající říční vodu nebo vodu podzemní. Ke krmení byla

používána krmiva od dvou výrobců, ve čtyřech případech krmivo Biomar, ale různých druhů a v jednom případě krmivo Aller Aqua.

Pro hodnocení jsme použili standardní parametry tedy výtěžnost ryb (včetně žaber), viscerosomatický index, obsah sušiny, tuku a proteinů v jejich svalovině. Při testu použitých krmiv jsme stejně analyzovali i krmné směsi. Při testování vlivu původu ryb jsme odebírali ryby u jednotlivých chovatelů a po zabití jsme je zachlazené dopravili do naší laboratoře, kde proběhly po zjištění délkohmotnostních parametrů uvedené analýzy. V případě testů krmiv sledování proběhla na experimentálním recirkulačním systému na našem oddělení.

Stanovení sušiny proběhlo při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti, obsah dusíkatých látek byl stanoven metodou podle Kjeldahla, obsah tuku extrakcí diethyletherem metodou dle Soxhleta. V případě analýzy spektra mastných kyselin byly provedeny analýzy pomocí plynového chromatografu po extrakci mastných kyselin směsí chloroformu a methanolu ze svaloviny ryb.

Jako základní charakteristika jsou využity délkohmotnostní parametry zpracovávaných ryb, délka celková (TL), délka těla (SL), výška (v) a šířka těla (š) a hmotnost ryb (W). Vedle základních parametrů jsou uvedeny i hmotnost ryb bez vnitřností (Wbv) a hmotnost jater (Wj), využité dále pro hodnocení výtěžnosti a hepatosomatického indexu (HSI).

Tab 1. Délkohmotnostní parametry analyzovaných ryb.

	Pravíkov	Žďár	Litomyšl	Skalní mlýn	Vrbno
TL ± SD	321,20 ± 19,30	313,80 ± 9,89	288,10 ± 7,06	290,50 ± 11,48	289 ± 8,62
Vx	6,01	3,15	2,45	3,95	2,98
SL ± SD	284,30 ± 17,21	274,00 ± 8,87	255,00 ± 7,24	258,30 ± 11,26	256,4 ± 8,54
Vx	6,05	3,24	2,84	4,36	3,33
V ± SD	66,30 ± 5,17	63,60 ± 4,81	64,60 ± 3,89	69,10 ± 5,36	67,4 ± 2,41
Vx	7,79	7,57	6,03	7,76	3,58
Š ± SD	34,60 ± 1,71	35,10 ± 2,28	33,20 ± 2,70	35,90 ± 2,56	33,5 ± 1,27
Vx	4,95	6,5	8,13	7,13	3,79
W ± SD	372,0 ± 49,79	339,9 ± 42,63	308,4 ± 33,91	347,6 ± 58,67	319,5 ± 24,55
Vx	13,38	12,54	10,99	16,88	7,68
Wbv ± SD	310,4 ± 44,85	305,6 ± 37,80	241,7 ± 27,71	298,8 ± 49,32	261,8 ± 19,17
Vx	14,45	12,37	11,46	16,51	7,32
Wj ± SD	5,74 ± 1,55	3,42 ± 1,21	4,78 ± 0,52	4,41 ± 1,62	3,46 ± 0,47
Vx	27,07	35,43	10,93	36,65	13,71

Výtěžnost ryb ovlivňuje hmotnost vnitřnostního komplexu, respektive hodnota VSI vyjadřující jeho procentický podíl, který je v případě lososovitých ryb odpadem. Vliv na výtěžnost měl obsah tuku na vnitřnostech, v játrech a vývoj gonád. Byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi chovateli. Vliv na výtěžnost může mít i původ ryb (jiný rámec těla) nebo využití celosamičích populací.

Pro hodnocení tělesného rámce lze využít standardní exteriérové a kondiční ukazatele (koeficient podle Fultona KF, index vysokohřbetosti Iv a širokohřbetosti Iš, hepatosomatický index HSI). Zjištěné rozdíly nedosáhly statisticky významné úrovně.

Tab 2. Výtěžnost ryb a hodnota viscerosomatického indexu (VSI)

	Pravíkov	Žďár	Litomyšl	Skalní mlýn	Vrbno
Výt. ± SD	83,42 ± 3,43^{bc}	89,93 ± 0,51^{d}	78,39 ± 2,90^{a}	86,01 ± 1,14^{c*}	81,97 ± 1,50^{b*}
Vx	4,12	0,56	3,7	1,32	1,83
VSI ± SD	16,56 ± 3,43^{bc}	10,09 ± 0,51^{d}	21,63 ± 2,90^{a}	14,04 ± 1,14^{c*}	18,06 ± 1,50^{b*}
Vx	20,74	5,02	13,41	8,09	8,32

Rozdílná písmena označují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Tab 3. Exteriérové ukazatele hodnocených ryb.

	Pravíkov	Žďár	Litomyšl	Skalní mlýn	Vrbno
K_F ± SD	1,62 ±0,16	1,65 ± 0,10	1,86 ± 0,18	2,01 ± 0,19	1,90 ± 0,17
Vx	9,62	6,33	9,57	9,57	8,93
HSI ± SD	1,54 ± 0,37	1,00 ± 0,27	1,56 ± 0,17	1,29 ± 0,53	1,08 ± 0,09
Vx	23,92	27,17	10,61	41,02	8,74
Iv ± SD	4,30 ± 0,30	4,32 ± 0,22	3,96 ± 0,21	3,75 ± 0,23	3,81 ± 0,21
Vx	6,95	5,14	5,25	6,04	5,47
Iš ± SD	12,19 ± 0,69	12,80 ± 0,60	13,03 ± 1,08	13,90 ± 0,71	13,07 ± 0,52
Vx	5,66	4,67	8,33	5,08	3,96

Tab 4. Složení svaloviny (hodnoty jsou v % čerstvé hmoty)

	Pravíkov	Žďár	Litomyšl	Skalní mlýn	Vrbno
Sušina ± SD	22,28 ± 0,94^{a}	24,16 ± 0,55^{ab}	23,40 ± 1,37^{ab}	25,31 ± 2,06^{bc}	27,30 ± 1,55^{c}
Vx	4,21	2,29	5,86	8,15	5,67
Bílkoviny ± SD	18,15 ± 0,44	18,09 ± 0,51	17,54 ± 0,66	17,55 ± 1,30	18,69 ± 1,18
Vx	2,42	2,81	3,78	7,41	6,31
Tuk ± SD	2,17 ± 0,46^{a}	3,76 ± 0,76^{ab}	5,01 ± 0,92^{bc}	6,5 ± 0,73^{cd}	7,34 ± 0,85^{d}
Vx	21,45	20,09	18,44	11,26	11,56
Popel ± SD	1,56 ± 0,09^{a}	1,45 ± 0,24	1,11 ± 0,21^{b}	1,25 ± 0,15	1,62 ± 0,16^{ac}
Vx	5,55	16,89	18,89	11,64	10,09

Rozdílná písmena označují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Jak je zřejmé z údajů uvedených v tabulce, byly ve složení svaloviny zjištěny rozdíly na statisticky významné úrovni. Zatímco obsah bílkovin je poměrně stabilní, obsah tuku je významně ovlivněn původem ryb a následně i sušina svaloviny, která závisí právě na „tučnosti“ svaloviny. Obsahu tuku ve svalovině odpovídá i jeho obsah ve vnitřnostech a játrech. Složení tkání ryb ovlivňuje složení použité krmné směsi, intenzita krmení a samozřejmě energetické výdaje v chovném prostředí. Pro porovnání obsahu jednotlivých živin je připojena tabulka použitých krmiv. Prezentovány jsou výsledky zjištěné v našich laboratořích.

Tab 5. Složení krmiv (v %).

	Pravíkov Efico genio 911	Žďár Aller silver	Litomyšl Efico alpha 756	Skalní mlýn Efico enviro 920	Vrbno Efico alpha 717
Sušina	95,08	94,83	94,95	96,03	94,34
Bílkoviny	43,57	39,64	41,46	41,6	40,17
Tuk	14,48	21,65	20,53	28,75	21,75
Popel	6,89	8,53	5,34	5,89	5,37

Uvedené označení nemusí být v současnosti platné pro nabízená krmiva.

Často se setkáváme s otázkou, zda je vhodnější ke konzumaci ryba s nižším nebo vyšším podílem tuku, ryba tučnější nebo ryba „libová“. Ze zdravotního hlediska a příznivého působení mastných kyselin (FA) na organismus konzumenta, závisí na složení spektra FA tuku ryb, nicméně ryby s nízkým obsahem tuku nemohou dodat požadované množství žádaných n-3 FA i při relativně vysokém zastoupení. Pro konzumenta je důležitější množství požadovaných FA v konzumovaných rybách, tedy přiměřená tučnost i při horším poměru zastoupení n-3 FA v tuku ryb. Srovnejte proto údaje v následujících tabulkách.

Tab 6. Zastoupení skupin mastných kyselin (% z jejich množství) a vzájemné poměry v krmivu a ve svalovině ryb (udáván je obsah ve svalovině a použitém krmivu).

Mastné kyseliny	Pravíkov		Žďár		Litomyšl		Skalní mlýn		Vrbno	
	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.
SFA	20,59	30,36	20,82	10,41	16,45	10,43	17,11	12,46	19,74	14,88
MUFA	31,96	22,59	41,27	58,91	44,40	55,36	45,91	52,82	41,91	48,17
PUFA	45,33[a]	41,95	35,53	28,82	36,66	31,02	34,13[b]	31,37	35,53	29,77
∑ n-3	29,95[a]	27,85	21,19	10,36	19,17[b]	11,65	17,97[b]	13,28	20,70[b]	13,09
∑ n-6	15,38	14,10	14,34	18,46	17,49	19,37	16,15	18,09	14,83	16,67
n-3/n-6	1,98[a]	1,98	1,44	0,56	1,10[b]	0,60	1,12[b]	0,73	1,40	0,79

Tab 7. Zastoupení skupin mastných kyselin (g/100 g) a vzájemné poměry v krmivu a ve svalovině ryb.

Mastné kyseliny	Pravíkov		Žďár		Litomyšl		Skalní mlýn		Vrbno	
	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.
SFA	0,62	2,49	1,01	1,35	1,29	1,85	1,81	2,49	1,86	2,25
MUFA	1,03	1,85	2,05	7,66	3,49	9,84	4,91	10,54	4,07	7,30
PUFA	1,35[a]	3,44	1,86[ab]	3,75	2,88	5,51	3,67[bc]	6,26	3,36[b]	4,51
∑ n-3	0,87[a]	2,28	1,11	1,35	1,50	2,07	1,94[b]	2,65	1,93[b]	1,98
∑ n-6	0,48	1,16	0,74	2,40	1,38	3,44	1,73	3,61	1,44	2,53
n-3/n-6	1,98[a]	1,98	1,44	0,56	1,10[b]	0,60	1,12[b]	0,73	1,40	0,79

Při senzorickém hodnocení analyzovaných ryb, které bylo provedeno v senzorické laboratoři šesticí kvalifikovaných hodnotitelů, nebyly zjištěny mezi skupinami statisticky významné rozdíly.

Vedle uvedených analýz byla u ryb provedena ještě genetická analýza s cílem genetické identifikace analyzovaných ryb z různých chovů. Ale tam jsme opravdu teprve na začátku.

V dalším testu bylo provedeno srovnání efektu použití krmné směsi se shodným obsahem živin ale rozdílným komponentním složením na produkční a imunologické parametry pstruha duhového. Součástí bylo zhodnocení vlivu i na nutriční hodnotu chovaných ryb. Test proběhl v experimentálním recirkulačním zařízení na našem oddělení. Do testu byl zařazen pstruh duhový celosamičí populace původem z Dánska, dovezený v kategorii jiker v očních bodech. Do zahájení testů byl odchováván v podmínkách recirkulačního systému. V testu byly použity ryby o průměrné hmotnosti 189 g, na konci testu probíhajícího v délce 70 dnů ryby dosáhly průměrné kusové hmotnosti 401 g. V testu byla použita krmiva firmy Biomar s označením EFFICO Enviro 920, EFFICO Enviro 920 Focus (s přídavkem imunostimulantů) a EFFICO Enviro 920 ADV (jako zdroj proteinů použity převážně rostlinné komponenty, minimalizován podíl rybí moučky). Byla provedena analýza obsahu sušiny, tuku a bílkovin u tří kusů ryb z každé varianty. V uvedených parametrech nutriční hodnoty nebyl zjištěn vliv použitého krmiva.

Závěrem lze říci, že kromě obsahu tuku a zastoupení mastných kyselin nebyly zjištěny mezi pstruhy duhovými pocházejícími z českých chovů významné rozdíly v jejich nutriční hodnotě ani senzorických parametrech. U žádného z hodnocených chovů nebyl zjištěn negativní vliv systému chovu, zdroje vody nebo použitého krmiva. Potvrdila se skutečnost, že i při horším poměru n-3 FA má vyšší obsah tuku příznivý vliv na jejich přijímané množství. Vyšší podíl vnitřnostního komplexu negativně ovlivňuje výtěžnost chovaných ryb, nicméně nemusí to být nutně jen množstvím tuku uloženého v tělní dutině.

Přestože objektivně nebyly zjištěny mezi sledovanými chovy významné rozdíly v hodnocených parametrech, určitě stojí za zvážení využití „přívlastku“ prokazujícího původ ryb, které chovatel dodává na trh. Tento přívlastek zaručuje konzumentu určitou standardizaci kvality produkovaných ryb, kvality vycházející ze systému chovu, podmínek prostředí a použitého krmiva. Tak je tomu například u regionálního produktu s označením Punkevní pstruh.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“ a projektu QJ1510077 „Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace“.

MOHOU MYKOTOXINY OBSAŽENÉ V KRMNÝCH SMĚSÍCH PRO LOSOSOVITÉ DRUHY RYB OVLIVNIT ZDRAVOTNÍ STAV RYB V AKVAKULTUŘE?

Modrá Helena[1], Mareš Jan[1], Svobodová Zdeňka[2], Plhalová Lucie[2], Matej Tkáč[2]

[1]Mendlova univerzita v Brně, Oddělení rybářství a hydrobiologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno
[2]Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Úvod

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity mikroskopických hub (plísní). Jsou produkovány plísněmi přímo na poli při pěstování plodin nebo následně při nedodržení vhodného termínu sklizně a při nevyhovujícím skladování. Mezi rostlinné patogeny patří plísně rodu *Claviceps, Alternaria a Fusarium*. Plísně rodu *Aspergillus* a *Penicillium* kontaminují plodiny častěji až v průběhu jejich kažení. Výskyt plísní v plodinách ovlivňuje druh plodiny, napadení škůdci, ale liší se i v závislosti na geografických faktorech. Například plísně produkující aflatoxin se vyskytují především ve vlhkém teplém klimatu jižní a jihovýchodní Asie a Afriky, plísně produkující ochratoxin A v jižní a východní Evropě. Ve střední Evropě se nejčastěji vyskytují plísně rodu *Fusarium*. Růstu některých plísní lze zabránit nebo jej snížit dodržováním zásad správné zemědělské praxe, v případě pro plísně příznivých podmínek prostředí je však ovlivnění růstu plísní v polních podmínkách problematické. I přes veškerou snahu producentů mohou být proto mykotoxiny obsaženy v krmných surovinách používaných pro výživu zvířat. Většina technologických úprav nesnižuje koncentraci mykotoxinů v surovinách. Například sušené lihovarnické výpalky mohou naopak obsahovat vyšší množství mykotoxinů než původní plodina. Riziko kontaminace krmných směsí pro ryby mykotoxiny se zvyšuje z důvodu nahrazování drahých živočišných komponent rostlinnými složkami. Nebezpečná může být především přítomnost mykotoxinů v krmných směsích pro lososovité druhy ryb, které jsou na toxické působení mykotoxinů extrémně citlivé.

Účinek mykotoxinů na ryby

Mezi nejvíce toxické mykotoxiny patří aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisiny, trichoteceny a zearalenon. Tyto mykotoxiny působí různými mechanismy na mnoho orgánových systémů živočichů včetně ryb. Akutní toxické účinky spojené s náhlým úhynem ryb má aflatoxin, většina ostatních mykotoxinů má chronické účinky, které se projevují především snížením přírůstků a vyšší náchylností k onemocněním v souvislosti s imunosupresí. Kontaminace rybí svaloviny mykotoxiny je možná v případě aflatoxinů, u ostatních mykotoxinů je riziko jejich přetrvávání ve svalovině málo pravděpodobné.

Aflatoxiny jsou produkovány plísněmi rodu *Aspergillus*. Nejvíce toxickým aflatoxinem je aflatoxin B_1 (AFB_1). AFB_1 je nejpotentnějším přírodním karcinogenem, má však i hepatotoxické, mutagenní, teratogenní a imunosupresivní účinky. Nejcitlivější k působení AFB_1 jsou juvenilní pstruzi duhoví, u kterých se aflatoxikóza projevuje primárním nádorem jater při chronickém příjmu AFB_1 v koncentracích vyšších než 0.001 mg/kg.

Ochratoxin A (OTA) produkují plísně rodu *Penicillum*. Hlavními cílovými orgány toxického účinku OTA u ryb jsou játra a ledviny. OTA má při dlouhodobém podání i imunosupresivní účinky. Přestože dosud nebyly provedeny žádné testy s OTA u pstruhů duhových, podle studií na sumečcích Ictalurus punctatus se zdá, že negativní efekt OTA v krmivu lze očekávat v koncentracích od 1.0 mg/kg.

Fumonisiny, trichoteceny a zearalenon patří mezi fusariové mykotoxiny. **Fumonisiny** narušují metabolismus sfingolipidů. U ryb se toxické účinky fumonisinů projevují poškozením nervové a jaterní tkáně, imunosupresí a snížením produkčních ukazatelů. Nejnižší koncentrace fumonisinů, které při experimentálním chronickém příjmu způsobily nepříznivé účinky, byly prokázány u sumečků (10 mg/kg krmiva) a kaprů (5 mg/kg krmiva). Estrogenní účinky **zearalenonu**, které jsou typické u savců, byly popsány také u lososů po intraperitoneálním podání. Koncentrace, které se běžně vyskytují v krmných směsích pro ryby, však nedosahují úrovně, která by toto působení mohla vyvolat. Mezi toxikologicky nejvýznamnější trichotecenové mykotoxiny patří deoxynivalenol (DON) a T-2/HT-2 toxin. Extrémně citlivý na působení **DON** je pstruh duhový, u kterého způsobuje poškození struktury jater, ledviny a střeva, snížení příjmu krmiva a změny hematologických ukazatelů. Nežádoucí účinky byly popsány už v koncentraci 0.3 mg/kg krmiva. Podobné působení jako DON má i **T-2 toxin**. U tohoto mykotoxinu je navíc výrazný i imunosupresivní efekt. U ryb byly popsány nežádoucí účinky v koncentracích vyšších než 2.5 mg/kg krmiva.

Působení **námele** (Claviceps purpurea) u ryb bylo studováno na kaprech. Ukázalo se, že poškození tkání se projevuje až v případě, že jsou ryby krmeny krmivem, které obsahuje 30–50 % kontaminovaného žita.

V poslední době jsou u savců sledovány také účinky tzv. nově se objevujících mykotoxinů (enniatiny, beauvericin). Účinky těchto toxinů však dosud u ryb nebyly experimentálně studovány.

Možnosti detekce

Jeden druh plísně může produkovat několik druhů mykotoxinů. Naopak přítomnost toxinogenní plísně nemusí být nutně spojená s přítomností mykotoxinu. Z tohoto důvodu se diagnostika mykotoxinů zaměřuje vždy na analytické stanovení toxinu a ne na průkaz plísně. Při analytickém stanovení se využívá chromatografických metod, které umožňují stanovit současně většinu nebezpečných mykotoxinů. Tyto metody jsou náročné na zavedení a přístrojové vybavení, ale při rutinní diagnostice jsou nejvýhodnější. Metodicky jednodušší a přístrojově méně nákladné je využití imunochemických metod, které však sebou přináší nevýhodu finančně nákladného využívání komerčních diagnostických kitů určených pro jednotlivé mykotoxiny. Tyto metody lze využívat jako screening při malém počtu vzorků.

Výskyt mykotoxinů v krmivech pro ryby a legislativní limity

Jediné mykotoxiny, pro které platí podle Nařízení komise (EU) č. 574/2011 legislativně limity pro obsah v krmivech, jsou aflatoxiny a námel. U dalších mykotoxinů (DON, zearalenon, ochratoxin A a fumonisiny) platí pouze doporučení, která by neměla být překročena. Limit určený přímo pro krmiva pro ryby platí u fumonisinů, u ostatních mykotoxinů platí obecné limity určené pro většinu druhů a kategorií zvířat (Tab. 1). Z důvodu limitovaných údajů o přítomnosti T-2 a HT-2 toxinů v produktech určených ke krmení zvířat nebyly pro tyto mykotoxiny doporučené limity dosud stanoveny.

Tab. 1: Limity pro obsah mykotoxinů v krmných surovinách a kompletních krmných směsích

Mykotoxin	Typ krmiva/suroviny	Limit [mg/kg]	nařízení
Aflatoxin B1	Doplňková a kompletní krmiva	0.01	Nařízení komise (EU) č. 574/2011
Námel (Claviceps purpurea)	Krmné suroviny a KS obsahující nemleté obiloviny	1 000	Nařízení komise (EU) č. 574/2011
Deoxyni-valenol	Doplňková a kompletní krmiva	5.0	Doporučení komise 2006/576/ES
Zearalenon	Krmné suroviny: Obiloviny a produkty obilovin Vedlejší produkty kukuřice	 2.0 3.0	Doporučení komise 2006/576/ES
Ochratoxin A	Obiloviny a produkty obilovin	0.25	Doporučení komise 2006/576/ES
Fumonisin B1+B2	Doplňková a kompletní krmiva pro ryby	10.0	Doporučení komise 2006/576/ES

V letech 2015–2016 bylo na oddělení toxikologie Ústavu ochrany zvířat, welfare a etologie (VFU Brno) stanoveno metodou ELISA celkem 5 mykotoxinů ve 29 krmných směsích (KS) určených pro lososovité druhy ryb (Tab. 2). Ve 23 případech byl prokázán alespoň jeden mykotoxin, 9 KS obsahovalo 3 různé mykotoxiny, 12 KS dva mykotoxiny a 5 KS pouze jeden z analyzovaných mykotoxinů. Ve všech případech byly stanovené koncentrace nižší než doporučené limity. Z tohoto pohledu tedy mykotoxiny pro ryby v akvakulturách riziko nepředstavují. V nejvyšších koncentracích se v krmných směsích nacházely fumonisiny a DON, nejčastěji ochratoxin, fumonisiny a zearalenon. Pokud se provede srovnání stanovených mykotoxinů s výsledky studií popisujících negativní účinky na rybách, jediným mykotoxinem, který překročil rizikovou úroveň, byl DON. Tento mykotoxin byl však prokázán pouze v jedné krmné směsi. Problémem může být synergický účinek více mykotoxinů v jednom krmivu, což se prokázalo u 21 z 29 analyzovaných krmiv.

Tab. 2: Výsledky vyšetření KS pro ryby na obsah mykotoxinů v letech 2015–2016.

2015	**Počet pozitivních/celkově vyšetřených KS**	**Koncentrace [mg/kg]**
Zearalenon	1/15	0.549
Ochratoxin A	9/15	0.003–0.011
Fumonisiny	9/15	0.066–1.419
T2/HT2 toxin	5/15	0.030–0.145
DON	0/15	-

2016	**Počet pozitivních/celkově vyšetřených KS**	**Koncentrace [mg/kg]**
Zearalenon	8/14	0.028–0.411
Ochratoxin A	14/14	0.008–0.016
Fumonisiny	8/14	0.072–0.210
T2/HT2 toxin	1/14	0.061
DON	1/14	0.500

Možnosti dekontaminace krmiv od mykotoxinů

K detoxikaci mykotoxinů se používají látky, které snižují jejich absorpci, podporují exkreci mykotoxinů nebo modifikují jejich mechanismus účinku. Mezi tyto látky patří adsorbenty a biotransformační činidla. Adsorbenty jsou látky s velkou molekulární hmotností, které vážou mykotoxiny přítomné v krmivu a neumožní tak jejich vstřebání v trávicím traktu. Do této skupiny látek patří minerální a organické adsorbenty (aluminosilikáty, jíly, aktivní uhlí, cholestyramin, polyvinylpyrolidon a další) a biologické adsorbenty (buněčné stěny kvasnic, bakterie, vláknina). Nevýhodou některých adsorbentů (aktivní uhlí) je to, že mohou vázat také vitamíny a minerály, které jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Mechanismus účinku biotransformačních činidel (bakterií, kvasinek, plísní) spočívá v tom, že jsou schopny přeměňovat (biotransformovat) mykotoxiny ve střevě na méně toxické metabolity. V některých případech však při biotransformaci mohou vznikat více toxické metabolity, než byl původní mykotoxin. Tato skupina látek je v současnosti studována s ohledem na stabilitu v různých prostředích gastrointestinálního traktu a vznikem metabolitů.

Závěr

Přesto, že analýzy mykotoxinů v krmných směsích pro lososovité druhy ryb ukázaly, že stanovené koncentrace nepředstavují významné riziko, je potřeba této problematice nadále věnovat pozornost. Existuje totiž předpoklad, že zdravotní stav ryb mohou negativně ovlivnit synergické účinky více typů mykotoxinů v krmných směsích. Hlavní účinky mykotoxinů při dlouhodobém příjmu nízkých dávek spočívají ve snížení produkčních ukazatelů v důsledku sníženého příjmu krmiva a zvýšené náchylnosti k onemocněním v důsledku imunosuprese.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“

Literatura:

Anater A., Manyes L., Meca G., Ferrer E., Luciano F.B., Pimpão C.T., Font G. (2016) Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. Aquaculture 451: 1–10.

Schatzmayr G., Streit E. (2013) Global occurrence of mycotoxins in the food and feed chain: facts and figures. World Mycotoxin Journal, 6: 213–222.

Matejova I., Svobodova Z., Vakula J., Mares J., Modra H. (2016) Impact of mycotoxins on aquaculture fish species: A review. Journal of the World Aquaculture Society. doi: 10.1111/jwas.12371.

Wielogórska E., MacDonald S., Elliott C.T. (2016) A review of the efficacy of mycotoxin detoxifying agents used in feed in light of changing global environment and legislation. World Mycotoxin Journal, doi: 10.3920/WMJ2015.1919.

ZKUŠENOSTI S APLIKACÍ AUTOGENNÍ VAKCÍNY V INTENZIVNÍM CHOVU LOSOSOVITÝCH RYB

I. Papežíková[1], L. Vojtek[2], P. Hyršl[2], T. Veselý[3], S. Reschová[3], E. Poštulková[4], J. Mareš[4], S. Navrátil[1], M. Palíková[1]

[1]Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel
[2]Masarykova univerzita Brno, Ústav experimentální biologie
[3]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Oddělení virologie
[4]Mendelova univerzita v Brně, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství

Úvod

Furunkulóza lososovitých, způsobená gramnegativní bakterií *Aeromonas salmonicida* je jednou z nejčastějších chorob, vyskytujících se v intenzivních chovech lososovitých ryb. Jednou z možností, jak snížit ztráty, způsobené touto chorobou, je preventivní vakcinace chovaných ryb. Tento příspěvek shrnuje zkušenosti s aplikací autogenní vakcíny proti furunkulóze v intenzivním chovu lososovitých ryb.

Materiál a metodika

Experiment 1.

Autogenní vakcína pro aplikaci formou koupele byla připravena firmou Bioveta, a. s. Hotová vakcína obsahovala 0,31 % formaldehydu; neobsahovala žádná adjuvans ani další přídatné látky s výjimkou média, v němž byly kultivovány bakterie. V červenci 2015 byla vakcína (1l roztoku/100 kg ryb) v terénních podmínkách aplikována pstruhovi duhovému (*Oncorhynchus mykiss*) a kříženci sivena amerického a sivena arktického (*Salvelinus fontinalis x Salvelinus alpinus*). Ryby byly sledovány po dobu deseti týdnů. V intervalech 3, 5, 7, 9 a 10 týdnů byly provedeny odběry krve a detekce specifických protilátek.

Účinnost vakcíny byla poté ověřena v laboratorních podmínkách. Devět týdnů po vakcinaci byla část vakcinovaných i kontrolních ryb experimentálně infikována vakcinačním kmenem *Aeromonas salmonicida*. Z několika testovaných způsobů experimentální infekce (koupel, kohabitace, intraperitoneální aplikace) byla vybrána intraperitoneální aplikace bakteriální suspenze (102 CFU/ryba). O čtyři týdny později byly provedeny odběry krve a kožního slizu a byla stanovena koncentrace celkových imunoglobulinů a specifických protilátek v krevní plazmě. Dále byly stanoveny některé parametry nespecifické imunity (fagocytární aktivita, hladina sérového komplementu a koncentrace lysozymu v kožním slizu).

Experiment 2.

Cílem dalšího experimentu bylo otestovat v laboratorních podmínkách efekt opakované vakcinace, srovnat různé způsoby aplikace a vliv různých typů adjuvans.

Všechny testované vakcíny byly vyrobeny firmou Dyntec, s. r. o. Ze dvou vybraných kmenů *A. salmonicida* byly připraveny tři autogenní vakcíny: injekční vakcína s olejovým adjuvans (emulze parafínového oleje ve vodě), injekční vakcína, u které byl jako adjuvans použit gel hydroxidu hlinitého a vakcína pro aplikaci formou koupele. Všechny vakcíny obsahovaly jako pomocné látky formaldehyd (0,3 %), dále saponin a gel hydroxidu hlinitého v koncentracích, obvyklých u komerčně vyráběných injekčních vakcín.

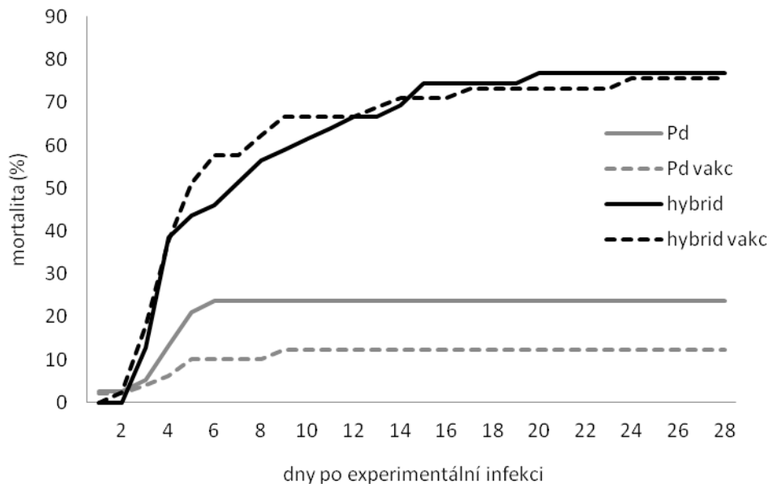
Vakcíny byly aplikovány pstruhovi duhovému o průměrné hmotnosti 12,4 g ± 0,18 g. Pro intraperitoneální injekční aplikaci byla zvolena dávka 2,5 . 10^8 CFU/ryba, pro koupel byla použita dávka 2 . 10^{14} CFU/m^3. Po třech týdnech byla provedena revakcinace poloviny ryb, a to u injekční vakcinace ½ dávkou, u koupele stejnou dávkou.

Po celou dobu experimentu byla sledována mortalita ryb. Osm týdnů po první vakcinaci (pět týdnů po revakcinaci) byla u části ryb odebrána krev a kožní sliz a zbylá část ryb byla experimentálně infikována A. salmonicida (intraperitoneální aplikace 100 µl bakteriální suspenze, 10^2 CFU/ryba). Po dvou týdnech byl proveden odběr krve a kožního slizu. Byla stanovena koncentrace celkových imunoglobulinů a specifických protilátek. Dále byly stanoveny některé parametry nespecifické imunity (fagocytární aktivita, hladina sérového komplementu a koncentrace lysozymu v kožním slizu).

Výsledky

Experiment 1. Bylo zjištěno, že kříženec sivena amerického a sivena arktického je k furunkulóze mnohem citlivější než pstruh duhový – mortalita u nevakcinovaných ryb po intraperitoneální aplikaci A. salmonicida dosahovala až 75 %. Vakcinace u kříženců neměla protektivní efekt. U pstruha duhového se po aplikaci vakcíny snížila mortalita o 50%. (Obrázek 1). Vakcinace však neměla vliv na koncentraci specifických ani celkových imunoglobulinů ani na vybrané parametry nespecifické imunity (na lysozym v kožním slizu, komplement, nebo fagocytární aktivitu). Vzhledem k těmto výsledkům bylo další testování provedeno pouze u pstruha duhového.

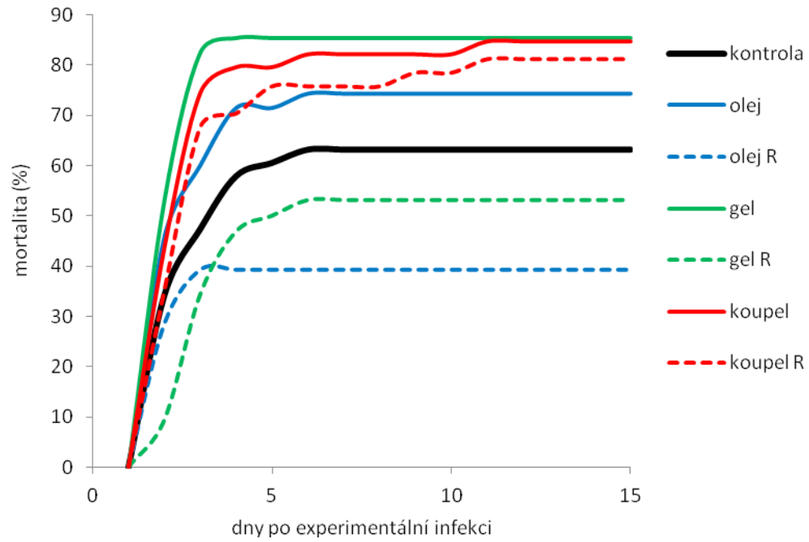
Obrázek 1. Jednorázová aplikace vakcíny bez adjuvans formou koupele. Mortalita pstruha duhového a křížence po experimentální infekci.



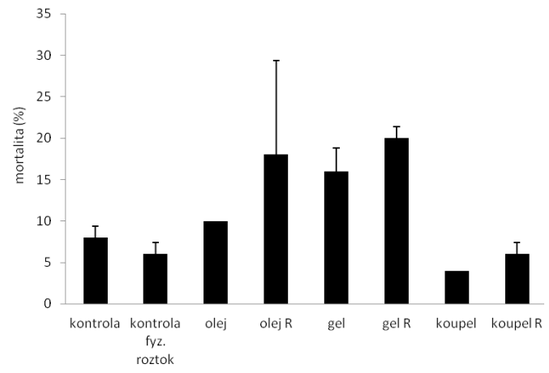
Experiment 2. Jednorázová vakcinace (všechny tři způsoby aplikace) neměla protektivní efekt, naopak u experimentálně infikovaných ryb výrazně zvyšovala mortalitu oproti kontrole. Opakovaná aplikace vakcíny s gelovým a olejovým adjuvans sice významně snížila mortalitu po experimentální infekci (Obrázek 2), ale během prvních osmi týdnů po aplikaci vakcíny (před experimentální infekcí) byla pozorována přibližně dvojnásobná úmrtnost vakcinovaných ryb ve srovnání s kontrolními rybami,

jimž byl intraperitoneálně aplikován fyziologický roztok (Obrázek 3). Přínos opakované vakcinace byl tedy přibližně stejný jako její negativní efekt. Zvýšená mortalita po vakcinaci byla pravděpodobně dána přítomností přídatných látek. Ve všech třech adjuvantních vakcínách byl přítomen formaldehyd (0,3 %), dále saponin a gel hydroxidu hlinitého. Vedlejší účinky pravděpodobně nebyly způsobeny přítomností formaldehydu, neboť u prvního experimentu nebyly vedlejší účinky pozorovány, přestože ve vakcíně byla přítomna tatáž koncentrace formaldehydu. Všechny adjuvantní vakcíny obsahovaly saponin a $AlOH_3$. Ve veterinární medicíně neexistuje maximální limit pro obsah $AlOH_3$ ve vakcínách – obsah se upravuje na základě výsledků experimentální aplikace. Koncentrace adjuvans by tedy měla být optimalizována tak, aby se u ryb rozvinula dostatečná imunitní odpověď, ale aby nedošlo k nežádoucím vedlejším efektům.

Obrázek 2. Jednorázové a dvojí podání adjuvantní vakcíny injekčně a ve formě koupele. Mortalita pstruha duhového po experimentální infekci.

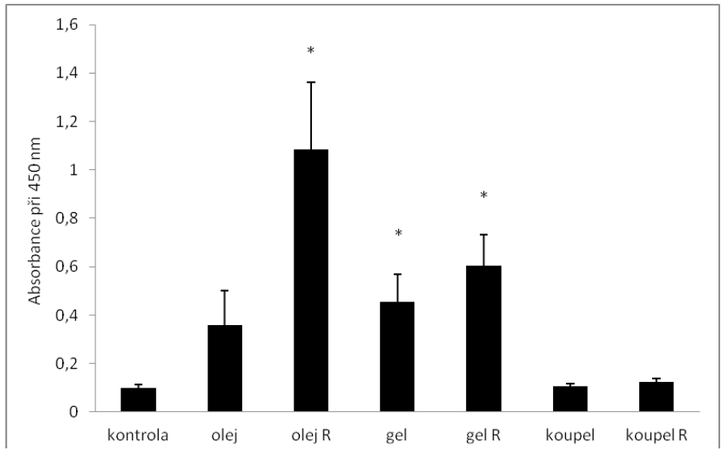


Obrázek 3. Jednorázové a opakované podání adjuvantní vakcíny injekčně a ve formě koupele. Mortalita pstruha duhového po aplikaci vakcíny (před experimentální infekcí). Data představují % uhynulých ryb během osmi týdnů po vakcinaci (vždy průměr ± SEM ze dvou nádrží).

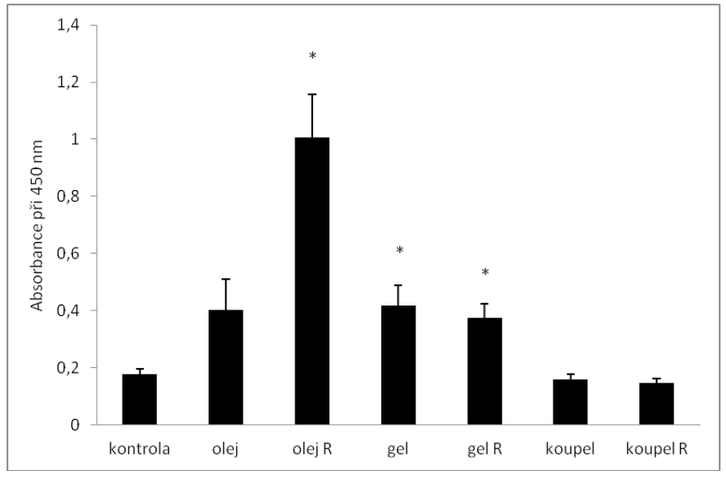


Injekčně aplikovaná vakcína s gelovým i olejovým adjuvans zvýšila u ryb produkci specifických protilátek. U ryb, ošetřených vakcínou ve formě koupele, se hladina specifických protilátek nezvýšila (Obrázek 4, 5). V parametrech nespecifické imunity nebyl mezi experimentálními skupinami pozorován významný rozdíl.

Jednorázové a dvojí podání adjuvantní vakcíny injekčně a ve formě koupele. Obrázek 4: Hladina specifických protilátek osm týdnů po vakcinaci.



Obrázek 5: Hladina specifických protilátek dva týdny po experimentální infekci.



Shrnutí a závěr

Vakcína bez adjuvans, podaná jednorázově formou koupele, sice měla u pstruha duhového po experimentální infekci značný protektivní efekt, ale nenavodila tvorbu specifických ani celkových protilátek a neměla vliv ani na vybrané parametry nespecifické imunity. Mechanismus účinku tedy zůstává nejasný.

Tabulka 1. Souhrn výsledků obou experimentů.

	adjuvans	mortalita po aplikaci	mortalita po exp. infekci	zvýšení produkce specifických Ig	parametry nespec. imunity
koupel	ne		snížená	ne	beze změny
olej	ano	beze změny	zvýšená	ne	beze změny
olej revakcinace	ano	zvýšená	snížená	silné	beze změny
gel	ano	zvýšená	zvýšená	mírné	beze změny
gel revakcinace	ano	zvýšená	snížená	mírné	beze změny
koupel	ano	beze změny	zvýšená	ne	beze změny
koupel revakcinace	ano	beze změny	zvýšená	ne	beze změny

Pro navození silné specifické imunitní odpovědi (produkce specifických protilátek) je nezbytné opakované podání adjuvantní vakcíny injekční formou. Také protektivní efekt po experimentální infekci byl pozorován jen po opakované injekční aplikaci. Při jednorázovém podání se u všech tří způsobů aplikace zvyšovala mortalita po experimentální infekci, což bylo pravděpodobně způsobeno přítomností vysokých koncentrací adjuvans a dalších přídatných látek. Dalším krokem by tedy měla být optimalizace jejich obsahu v podáváné vakcíně.

Poděkování

Tato práce byla financována z grantů MZe NAZV QJ 1210013 and MZe NAZV QJ 1510077.

Použitá literatura je k dispozici u autorů.

ZDROJOVÝ MATERIÁL PRO PRODUKCI LOSOSOVITÝCH RYB V ČR – MINULOST A SOUČASNOST

DOTAZNÍK – CHOVNÁ PRAXE V ČR

Mgr. Jan Mendel, Ph.D.

Ústav biologie obratlovců, v. v. i., Květná 8, Brno 603 00

Pro zjištění stavu v českých chovech byl připraven dotazník s 17 tematicky strukturovanými otázkami:

Prohlášení o diskrétnosti
- přístup k odpovědím bude limitován jen pro osoby řešící projekt a nebude poskytován jiným osobám
- shromážděné informace budou zpracovány pro nástin reálného pohledu na strukturu chovů v ČR
- jméno firmy nebude uváděno mezi účastníky výzkumu, pokud nebude výslovně požadováno

Obecné poznámky k dotazníku
- dotazník obsahuje 17 otázek
- lze zakroužkovat více odpovědí na danou otázku
- pokud máte nedostatek místa k odpovědím, využijte druhé strany dotazníku nebo poznámky na konci

Název firmy:

1. Jakou lososovitou rybu chováte ve svém zařízení:
- pstruh duhový (Oncorhynchus mykiss)
- siven americký (Salvelinus fontinalis)
- jiný lososovitý druh nebo kříženec:

2a. Ve svém chovu si výtěr a oplodnění provádíte sami? Z vlastního kmenového hejna?
ANO/NE
Duhák:
Siven:

2b. Dokážete odhadnout počet generací u vaší nejstarší chovné populace?
ANO, kolik generací:
NE

3a. Nakupujete jikry v očních bodech či jiný produkční materiál od zahraničního dodavatele?
ANO/NE.
Duhák:
Siven:

3b. Z kterých zemí a od kterých zahraničních producentů nakupujete produkční materiál? Uveďte konkrétně:
Duhák:
Siven:

4. Znáte přesný název plemene/linie, kterou nakupujete a jste s ní spokojeni?
Duhák:
Siven:
V případě odpovědi ANO, uveďte název linie či plemene.

5. Jakou formu pstruha duhového používáte v chovech:
- tažnou (steelhead)
- netažnou a jezerní
- mix
- nevím

6. Jaké populace pstruha duhového dle období výtěru chováte ve svém zařízení:
- s jarním výtěrem
- s podzimním výtěrem
- obojí

7. Jaké populace sivena dle období výtěru chováte ve svém zařízení:

8. Dokážete odhadnout vaši úroveň inbreedingu v každé nově selektované generaci?
ANO
NE

Pokud ano, jakým způsobem to provádíte:
9. Jaké reprodukční technologie a alternativní genetické vylepšovací techniky používáte:
- klasický výtěr
- hormonální manipulace
- jen 100% samičí populace (♀monosexing)
- triploidizace (3n populace)
- hybridizace (mezi druhy: …..
- kryoprezervace
- jiné:

10. Na jaký znak provádíte selekci nebo byste rádi prováděli selekci u lososovitých ryb:
- barva těla
- barva masa
- pohlaví
- období pohlavní zralosti
- morfologické a meristické znaky (např. délka těla, hmotnost, atd.). Konkrétně:
- vývoj embrya (např. časová stabilizace u rybího potěru, atd.)
- % tuku a jeho distribuce
- konverze krmiva do rybí biomasy (FCR , feed conversion ratio)
- plodnost (fecundity)
- rychlost růstu

- čas líhnutí
- čas tření
- rezistence k chorobám (bakteriálním a virovým)
- rezistence k parazitům
- osmoregulace
- velikost sleziny
- imunitní odpověď na stres (tolerance k teplotě, obsahu soli, atd.)

11. Jaký typ selekce v chovech používáte:
- individuální selekci (nejběžnější)
- rodinnou selekci (family)
- vnitrorodinnou selekci
- mezirodinnou selekci
- kombinovanou selekci
- genealogickou selekci (podle rodokmenu)
- crossbreeding (křížení různých variet, populací)
- marker asistovanou selekci (MAS)
- nevím
- jiné:

12. Používáte některé šlechtitelské metody u lososovitých chovných ryb? Zakroužkujte jaké:
- čistokrevná plemenitba (pro udržení stavu plemenných ryb, produkci užitkových populací)
- křížení (pro produkci užitkových hybridů s lepšími vlastnostmi, tvorbu nových plemen/linií)
- systematická selekce - MAS (pro zlepšení užitkových vlastností)
- genomové manipulace (např. pro produkci triploidů, samčích populací, atd.)
- jiné:

13. Jaké molekulárně-genetické nástroje pro „kontrolovaný chov“ používáte:
- nástroje pro identifikaci jedince, plemene/populace, druhu, hybridů, atd.
- nástroje pro marker asistovanou selekci (MAS)
- nástroje pro genomickou selekci
- nástroje pro výběr vhodných partnerů ke křížení
- žádné
- jiné:

14. Jaké genetické nástroje „kontrolovaného chovu“ byste přivítali ve vašem zařízení?
- neinvazivní způsob determinace pohlaví
- stanovení čistoty/integrity plemene nebo linie
- stanovení trendu inbrídingu a variability chovu
- testování vhodného zdroje pro obnovu kmenového hejna
- stanovení biodiverzitního koeficientu pro určení vhodného partnera v křížení
- jiné:

15. Víte o rybích utečencích z chovů do volných vod? Odhadněte rozšíření tohoto fenoménu (v % nebo v počtech ryb).

16. Máte v úmyslu vyzkoušet nějaký nový druh pro vaše zařízení?
ANO, jaký?
NE

17. Sledujete chovné programy (breeding programs) v jiných zemích? Stáli byste o sdělování novinek v této oblasti formou občasného semináře?
ANO
NE

Poznámky:

Poděkování
Tento příspěvek vznikl za podpory projektu NAZV QJ1510077.

MORFOLOGICKÉ ROZDÍLY V RÁMCI CHOVANÝCH SKUPIN LOSOSOVITÝCH RYB

Halačka Karel
Ústav biologie obratlovců AVČR, v.v.i., Květná 8, Brno

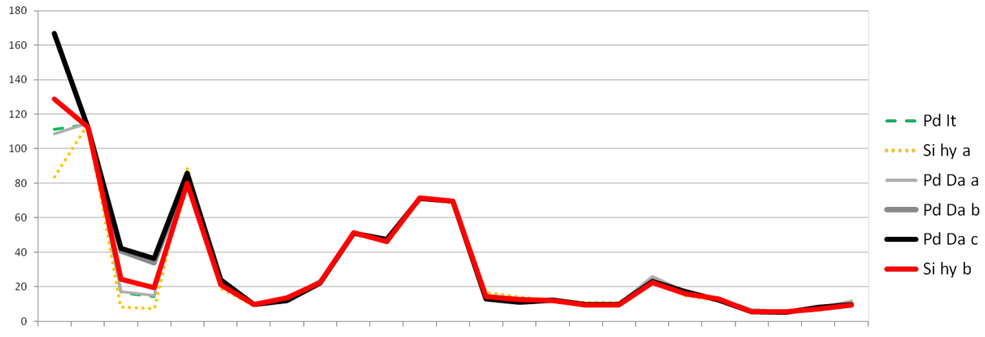
Cílem studie je posouzení vlivu druhu/linie a podmínek chovu. Tato práce zachycuje první průběžné výsledky získané na základě tří skupin lososovitých ryb – pstruha duhového původem z Itálie, z Dánska a hybridních jedinců sivena (S. fontinalis x S. alpinus). Sledovány byly vybrané morfologické parametry – stavba těla, hmotnost vnitřních orgánů, struktura pokožky a žáber a velikost krvinek.

Meristika

Druh/linie: Pstruh duhový Italie /106 mm/, Pd Dánsko /101, 166, 168 mm/, Siven hybrid /92, 134 mm/
chovné zařízení: shodné
krmivo: sodné
prostředí: shodné
termín odběru: VIII; III

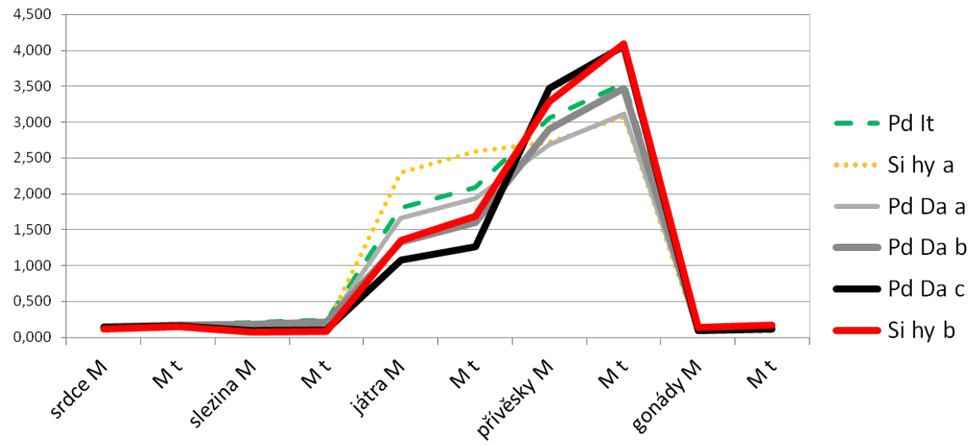
sledována: celková délka těla (TL); hmotnost celková (M), hmotnost bez vnitřních orgánů (Mt) a jejich poměr (M/Mt); maximální a minimální výška těla, šířka těla (Tš), vzdálenost ploutví (O-P,O-V, O-D, O-A) a řitního otvoru (O-Ř)od přední části těla, velikost ploutví (P, V, D, A), výška a šířka hlavy (H max, min), velikost oka, vzdálenost předoční a mezioční, velikost tlamy – vše přepočteno na relativní hodnoty vůči SL

Obr. 1 Relativní hodnoty sledovaných veličin



Výsledky: morfologie těla sledovaných skupin vyrovnaná, výraznější rozdíly pouze v nižší relativní hmotnosti i hybridů sivena

Obr. 2 Hmotnost srdce, jater, pylorických příspěvků a gonád – přepočteno na relativní hodnoty vůči celkové hmotnosti (M) a hmotnosti bez vnitřních orgánů (Mt)

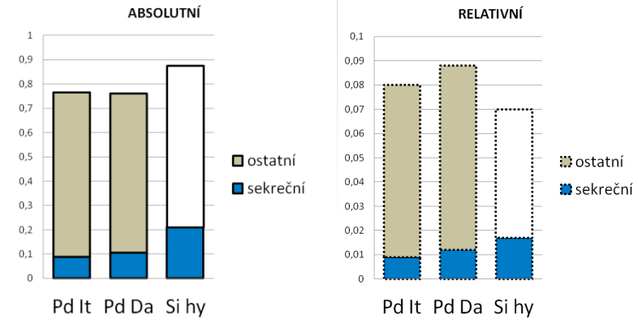


Výsledky: hmotnost orgánů v rámci sledovaných skupin poměrně vyrovnaná, jisté rozdíly v hmotnosti jater a pylorických přívěsků souvisí spíše s velikostní kategorií než daným druhem/linií

Pokožka struktura

Druh/linie: Pstruh duhový Italie /106 mm/, Pd Dánsko /101 mm/, Siven hybrid /92 mm/
chovné zařízení: shodné
krmivo: shodné
prostředí: shodné
termín odběru: shodný
Sledována síla a struktura pokožky (objemové zastoupení sekrečních buněk) na dorzální části hlavy.

Obr. 3 Absolutní a relativní síla pokožky a objem sekrečních buněk



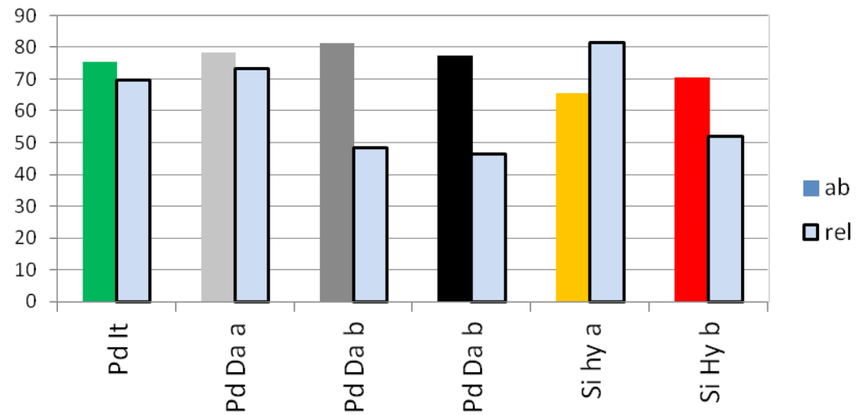
Výsledky: pokožka hybridní sivenů relativně tenčí, obsahuje více sekrečních buněk

Struktura žáber

Druh/linie: Pstruh duhový Italie /SL 106 mm; **Pd It a**/, Pd Dánsko /101, 166, 168 mm; **Pd Da a, b, c**/, Siven hybrid /92, 134 mm; **Si hy a, b**/
chovné zařízení: shodné
krmivo: sodné
prostředí: shodné
termín odběru: VIII; III

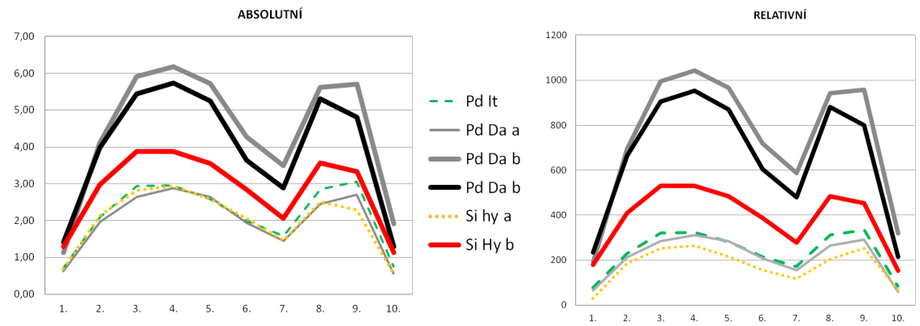
Stanoven počet žaberních lupínků a jejich výška (vždy 10 lupínků lokalizovaných v pravidelných intervalech daného oblouku) na prvním žaberním oblouku

Obr. 4 Absolutní a relativní počet žaberních lupínků



Výsledky: hybrid sivena poněkud nižší absolutní počet ale vyšší relativní počet žaberních lupínků (vůči pstruhu duhovému odpovídající velikostní kategorie)

Obr. 5 Absolutní a relativní výška jednotlivých žaberních lupínků

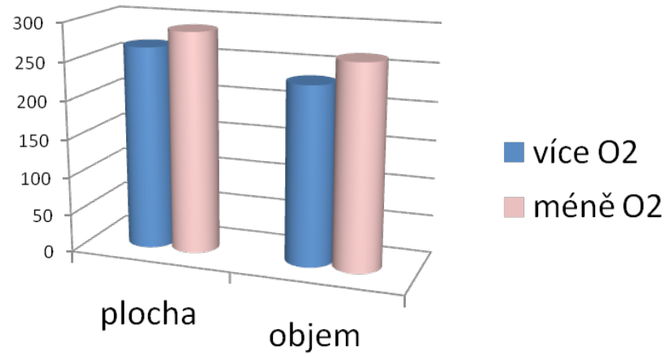


Výsledky: hybridní siven má kratší žaberní lupínky (a tím i celkovou plochu žáber) než pstruh duhový

Velikost krvinek
Druh/linie: Pstruh duhový Dánsko
chovné zařízení: shodné
prostředí (kyslík): α) vyšší nasycení β) nižší nasycení
krmivo: a)920 b)920 FOCUS c)920 ADV
čas odběru: shodný

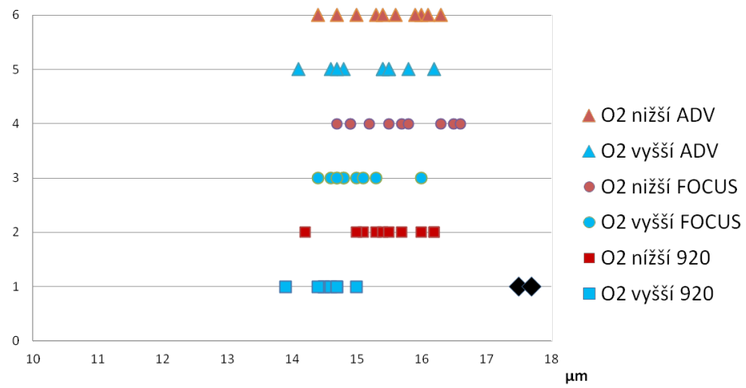
Měřen maximální a minimální rozměr červených krvinek na krevních nátěrech, porovnáván maximální rozměr nebo vypočtené hodnoty plochy a objemu (pravidelný elipsoid)

Obr. 6 Plocha a objem krvinky u ryb chovaných při různém nasycení vody kyslíkem



Výsledky: při nižší úrovni kyslíku se zvýšila velikost (plocha/objem) jednotlivých krvinek

Obr. 7 Velikost krvinek (průměrný maximální rozměr) u jedinců u šesti skupin ryb lišících se úrovní kyslíku ve vodě a druhem krmiva



Výsledky: použití různého typu krmiva ovlivnilo velikost jednotlivých krvinek; pozn. černě – dva triploidní jedinci

Závěr

Získané výsledky naznačují možnost rozdílů:
- mezidruhových v relativní hmotnosti, struktuře pokožky a morfologii žaber
- v krevních elementech v závislosti na kvalitě vodního prostředí a složení krmiva

Tyto rozdíly mohou mít vliv na zdravotní stav, jako je parazitace či mechanické poškození (struktura pokožky), případně na fyziologii jedinců (morfologie žáber a velikost erytrocytů) tloušťka a objem sekrečních buněk může.
Naopak nebyly nalezeny výrazné rozdíly v morfologických parametrech mezi sledovanými skupinami.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“ a QJ1510077 „Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace“.

KONTROLOVANÝ CHOV - PŘÍNOS GENETIKY PRO ÚČELY CHOVU LOSOSOVITÝCH RYB

Mgr. Jan Mendel, Ph.D.

Ústav biologie obratlovců, v. v. i., Květná 8, Brno 603 00

V historii byly prováděny rozličné pokusy pro správné řízení chovných programů v akvakultuře. Hlavní chovné programy postavené na inbrídingu, selekci a hybridizacích byly tradičně praktikovány pro zvýšení produkce. Často byly aplikovány bez znalosti genetického pozadí, tzn. znalostí genů, jež ovlivňují selektovaný znak. Od roku 1990 v živočišné produkci nastupuje období přechodu od kvantitativní genetiky k molekulární a začíná se pozvolna objevovat nový chovný přístup postavený na technice MAS (marker-assisted selection). Bylo to jak z důvodu rychlého nástupu nových molekulárních metod, tak i z prosté potřeby neustále vylepšovat hlavní produkční a ekonomické ukazatele, jako je délka přežití, rezistence k nemocem, rychlost růstu, plodnost, atd., které tradičními metodami se již nedařilo zlepšovat. Touha po zvýšení reprodukční kapacity, zrychlení rychlosti růstu, zlepšení kvality masa/filetů, zlepšení konverze krmiva, zvýšení délky přežití, zvýšení rezistence k teplotě, nemocem a špatné kvalitě vody vedla a neustále vede vlastníky mezinárodních chovů ke spolupráci s vědeckými centry pro nastavení nových modernějších přístupů v chovných programech. Současné pokroky především v sekvenačních technologiích přinesly revoluci v chovném průmyslu díky konstrukcím genetických map druhů s komerčním potenciálem. Vývoj a aplikace genomiky napomáhá řešit mnohé otázky doposud neřešitelné i díky novým metodologiím a nejmodernějším nástrojům, jako jsou např. techniky masivního paralelního sekvenování (NGS, next generation sequencing) nebo microarray technologie. Jsou již konstruovány a prohlíženy až celé genomy anebo jsou identifikovány tisíce kandidátních genů zapojených do různých funkcí/činností morfologických, fyziologických, etologických, atd. Nacházíme se v období, kdy jsou vytvářeny vazbové mapy (linkage map) pro mapování hlavních chromozómových regionů zodpovědných za ten který fenotypický znak (QTL, Quantitative trait loci). Jsou relativně levně a rychle připravovány molekulární markery, jež efektivně popisující a odrážejí sledovaný znak. Dřívější metody - alozymová analýza, AFLP, RAPD, mtDNA analýza, atd. jsou postupně nahrazovány více vypovídajícími molekulárními technikami, jako jsou mikrosatelitová analýza a SNPs (single nucleotide polymorphism) genotypizování.

Níže uvádím **stručný neúplný výčet praktického využití genetiky (A - E)** jako spolehlivého nástroje v komerčních chovech jak s obecným komentářem, tak i s konkrétními výstupy z právě probíhajícího projektu:

A. Využití při identifikačních studiích jedinců, populací, plemen/linií, druhů

- druhová determinace a rozlišení vnitrodruhových heterozygotů a mezidruhových hybridů
- rozlišení jedinců z divokých populací a z chovu
- rozlišení jedinců neznámého původu ve smíšeném chovu
- identifikace národních zdrojů podporovaných Národním programem konzervace a využívání
  genetických zdrojů zvířat (MZe)
- vystopování utečenců z chovů a prokázání jejich existence ve volných vodách

B. Použití genomické informace v chovných programech

Obecně:
- pro určení původu potomstva za účelem prokázání rodinných vazeb jedinců pro odhady genetických parametrů (heritabilita, genetické korelace) a chovných hodnot u selektovaných znaků
- pro screening polymorfismů v populaci/chovu
- pro optimalizaci selekce a křížení za účelem vyhnutí se negativnímu trendu inbrídingu
- pro stanovení biodiverzitního koeficientu
- pro monitoring integrity chovu

Konkrétní projektové aktivity pro body A a B

- v rámci probíhajícího projektu byla připravena certifikovaná metodika na determinaci sivenů a jejich hybridů. Pomocí analýz jaderné DNA dokážeme spolehlivě a velmi levně rozlišit druhy salvelinus fontinalis, s. alpinus, s. umbla a alsaského hybrida. V případě sivena amerického dokážeme zachytit širší haplotypový polymorfismus a rozlišit tak i jeho rozličné varianty. Identifikační metoda je součástí podané patentové přihlášky PV 2015 - 957.

U sivena duhového dokážeme v současnosti rozlišit 4 více či méně odlišné haplotypy a jejich heterozygotní kombinace, které jsou nerovnoměrně zastoupeny v českých chovech.

V tomto roce jsme zahájili přípravu nových metodik determinace plemen/linií pstruha duhového a sivenů na základě fragmentační analýzy. Proběhla rozsáhlá selekce STR lokusů vhodných pro konstrukci dvou identifikačních panelů - OMY (pro pstruha duhového) a SALVE (pro siveny). V současnosti probíhá optimalizace a testování 25 polymorfních lokusů, z nichž nejvhodnější budou vybrány a použity pro účely:
- potvrzení národního genetického zdroje (národní dotace)
- stanovení čistoty plemene (linie, populace)
- vyloučení mezilinijních heterozygotů a mezidruhových hybridů
- posouzení aktuální genetické variability chovu/plemene
- výběru vhodných partnerů v křížení (tzv. biodiverzitní koeficient)
- vyhodnocení trendu úrovně inbrídingu v chovu
- stanovení koeficientu genetické vzdálenosti/příbuznosti plemen
- genetického posouzení vhodnosti nových zdrojů pro obnovu kmenového hejna
- marker asistované selekce (MAS) s předvybraným QTL

C. Určení pohlaví neinvazivním způsobem

Obecně:
- identifikace sex determinujících faktorů u jikernaček a mlíčňáků

Konkrétní projektové aktivity

V rámci chystaného toolboxu pro komerční chovy bylo dodatečně doplněno molekulární stanovení pohlaví jak u pstruha duhového, tak i sivenů a to již od raných stádií. Je zohledňována i integrace „hormonal sex manipulation“ v chovných programech. Proběhla již selekce vhodných markerů - kandidátů a selekce molekulární metody stanovení. V současnosti probíhá fáze optimalizační a testovací.

D. Vyhledávání významných QTL (Quantitative trait loci - lokusy kvantitativních znaků)

- aktivní vyhledávání lokusů s jasně definovanými genetickými markery, u kterých se má za to, že jsou spojeny s fenotypovým projevem vlastnosti/znaku a to jak přímo anebo nepřímo (ve vazbě s QTL). Díky kompletaci vazebných map u cca 40 chovaných rybích druhů (Yue, 2012) bylo lokalizováno >37 důležitých znaků/vlastností u 20 chovaných rybích druhů. Znaky, které jsou klasifikovány jako kvalitativní, kvantitativní a prahové (threshold), kódované určitým počtem genů zapojeným do fenotypové variability, uvádí Tab. 1.

Tab. 1. Klasifikované vlastnosti/znaky u chovných druhů a QTL analýzy s referencí k prvnímu popisu.

Trait	Species	Year	Reference
Qualitative Traits			
Color			
Body color	Tilapia	2005	Lee et al.
Flesh color	Atlantic salmon	2009	Derayat
Skin pigmentation	Atlantic salmon	2008	Boulding et al.
Lactate dehydrogenase (LDH)	Common carp	2009	Mao et al.
Numbers of vertebrae, lateral line, fin rays and gill rakers	Rainbow trout	2004	Nichols et al.
Sex determination	Tilapia	2003	Wang et al.
Sex maturation	Arctic charr	2007	Moghadam et al.
Superoxide dismutases (SOD)	Common carp	2012	Xu et al.
Quantitative Traits			
Abdominal, pre anal and post anal length	European sea bass	2010	Massault et al.
Adipose fin, caudal peduncle, dorsal fin, operculum, pectoral fin position and snout	European atlantic salmon	2008	Boulding et al.
Body depth	Catfish	2008	Hutson
Body length	Tilapia	2003	Cnaani et al.
Body size	Prawn	2006	Li et al.
Body weight	Tilapia	2003	Cnaani et al.
Body width	Common carp	2011	Zheng et al.
Caudal length	Asian sea bass	2011	Wang et al.
Caudal width and depth	Catfish	2008	Hutson
Embryonic developmental rate	Rainbow trout	2001	Robison et al.
Eye size	Common carp	2009	Liu et al.
Fat percentage and distribution	Atlantic salmon	2007	Derayat et al.
FCR	Common carp	2009	Li et al.
Fecundity	Japanese flounder	2008	He et al.
Fork length	Rainbow trout	2005	Perry et al.
Growth rate	Arctic charr	2003	Tao and Boulding
Hatch time	Atlantic salmon	2010	Vasemagi et al.
Head depth and length	Catfish	2008	Hutson
Head width	Catfish	2008	Hutson
Pyloric caeca	Rainbow trout	2004	Nichols et al.
Spawning time	Rainbow trout	2003	O'Malley et al.
Threshold Traits			
Bacterial disease resistance	Japanese flounder	2008	Xu et al.
Natural killer cell like activity	Rainbow trout	2004	Zimmerman et al.
Osmoregulation	Atlantic salmon	2005	Robison et al.
Parasite disease	European eastern oyster	2006	Yu and and Guo
Spleen size	Rainbow trout	2008	Hadidi et al.
Stress response			
Confinement stress response	Tilapia	2004	Cnaani et al.
Salinity tolerance	Tilapia	2007	Rengmark et al.
Thermo tolerance	Rainbow trout	1998	Jackson et al.

Konkrétní projektové aktivity

Aktuálně probíhá v projektu selekce konkrétních QTLs, ekonomicky důležitých znaků zájmu, kontrolované jedním nebo malou skupinou genů. Je přihlíženo k známé podobě genetického markeru a vhodné metodě detekce u zkoumaných linií a plemen. Co se týče porovnání množství doposud popsaných QTLs u projektových druhů, tak více literárních záznamů je popsáno u pstruha duhového, pak sivena arktického a sivena amerického, viz Tab. 2.

Tab. 2. Přehled významných vlastností/znaků používaných v současnosti pro QTL analýzu projektových druhů a souhrn dostupných literárních zdrojů.

Species	Traits	References
Arctic charr	Body weight, growth rate, salinity tolerance resistance, sex determination, sex maturation, and thermo tolerance resistance.	Kuttner et al. (2011), Moghadam et al. (2007a,b), Norman et al. (2011), Quinn et al. (2011), Somorjai et al. (2003), and Tao and Boulding (2003)
Brook charr	Body length, body weight, confinement stress response, and growth rate	Sauvage et al. (2012)
Rainbow trout	Bacterial disease resistance, body weight, confinement stress response, embryonic development, fork length, natural killer (NK) cell, numbers of vertebrae, lateral line, fin rays and gill rakers, osmoregulation, parasite disease resistance, pyloric caeca, salinity tolerance resistance, sex determination, sex maturation, spawning time, spleen size, spawn time, thermo tolerance resistance, and viral disease resistance	Baerwald et al. (2011), Barroso et al. (2008), Danzmann et al. (1999), Hadidi et al. (2008), Jackson et al. (1998), Le Bras et al. (2011), Moen et al. (2007, 2009), Nichols et al. (2003, 2004), O'Malley et al. (2003), Ozaki et al. (2001), Palti et al. (1999, 2001, 2011), Perry et al. (2001, 2005), Quillet et al. (2010), Reid et al. (2005), Rexroad et al. (2012, 2013), Robinson et al. (2005), Rodriguez et al. (2004), Sundin et al. (2005), Vallejo et al. (2009), Wringe et al. (2010), and Zimmerman et al. (2004, 2005)

E. Při selekčních procedurách

- pro výběr jedinců s takovými QTLs, u kterých byl prokázán významný vliv na fenotypovou hodnotu požadovaného kvantitativního znaku (rezistence k onemocněním, rychlost růstu, konverze krmiva, anti-stres vlastnosti, teplotní tolerance, koncentrace omega-3-mastných kyselin, atd.). Nový přístup k chovným technikám používající QTL k selekci se nazývá - asistovaná selekce podle markerů (MAS, marker assisted selection). Má své výhody: a) jsou zjistitelné již na počátku u raných stádií, v průběhu života ne až po uhynutí jedince; b) znaky vyskytující se jen u jednoho pohlaví, lze zjistit i u obou pohlaví; c) lze eliminovat heterozygoty, kteří se ve fenotypu u dominantních znaků neprojevují, atd. Tabulky 1, 2 ukazují doposud nalezené QTLs u některých chovných druhů, včetně projektových. Jejich využití při asistované selekci je v některých případech ve fázi experimentálních programů.

Poděkování

Studie byla vypracována v rámci řešení výzkumného projektu NAZV QJ1510077 a QJ1210013.

Doporučená literatura - konkrétní příklady a projekty

1. A field guide to genetics in fisheries, link: http://frdc.com.au/research/Documents/Genetics-Fisheries-Field-Guide.pdf

2. Araki H., Schmid C., 2010. Is hatchery stocking a help or harm? Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. Aquaculture 308, S2-S11

3. Ovenden J.R., Berry O., Welch D.J., Buckworth R.C., Dichmont C.M., 2015. Ocean's eleven: a critical evaluation of the role of population, evolutionary and molecular genetics in the management of wild fisheries. Fish and fisheries 16, 125-159.

4. Aktuální evropský projekt i s českou účastí - FISHBOOST, link: http://www.fishboost.eu/

5. Janssen K., Chavanne H., Berentsen P., Komen H. 2016. Impact of selective breeding on European aquaculture. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.012

6. Firma AquaGen a jejich nabídka: Rainbow trout eggs 2016 a 2017, včetně nabídky dalších služeb AquaGen Rainbow Green Sterile nebo AquaGen Rainbow All Female.

Link:
a) http://aquagen.no/wp-content/uploads/2014/10/aquagen-rainbow-trout-eggs-2016.pdf
b) http://aquagen.no/en/products/trout-eggs/trout-eggs-2016-start-material-with-the-best-potential-for-growth-and-survival/

7. Fopp-Bayat D., Jankun M., Kuzminski H. 2010. Genetic charakterisation of Polish cultured brook trout, Salvelinus fontinalis (Mitchill), based on microsatellite DNA analysis. Arch. Pol. Fish 18: 93-99.

8. Fetherman E.R., Winkelman D.L., Baerwald M.R., Schisler G.J. 2014. Survival and Reproduction of Myxobolus cerebralis-Resistant Rainbow Trout Introduced to the Colorado River and Increased Resistance of Age-0 Progeny. PLoS ONE 9(5): e96954. doi:10.1371/journal.pone.0096954

9. ICES. 2008. Report of the Working Group on the Application of Genetics in Fisheries and Mariculture (WGAGFM), 1–4 April 2008, Pitlochry, Scotland, UK. ICES CM 2008/MCC:04. 77 pp.

VLIV TEPLOTY A TVARU NÁDRŽÍ NA RŮST, PŘEŽITÍ A FREKVENCI VÝSKYTU DEFORMIT ČELISTÍ U LAREV SÍHA PELEDĚ (COREGONUS PELED GMELIN, 1788)

R. Šebesta *, V. Stejskal, M. Prokešová, J. Matoušek, K. Novikava, T. Vanina

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích (JU), Fakulta rybářství a ochrany vod (FROV), Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Ústav akvakultury a ochrany vod (ÚAOV), 370 05 České Budějovice

Úvod

Nediferencovaná kostní buňka se nazývá osteoblast. Tyto buňky mají různé tvary v závislosti na umístění v kosti a jejich aktivitě. Vykazují hruškovitý, vřetenovitý či kvádrovitý tvar (Witten and Hall, 2002). Základní buňkou zralé kosti je osteocyt. Počet osteocytů a jejich tvar se liší v závislosti na části kostry a druhu ryby (Meunier, 2011). Na pevnost kostry má silný vliv obsah minerálů. Nejvíce obsažené minerály v kostech jsou fosfor a vápník. Fosfor je absorbován ze stravy, vápník jak ze stravy, tak z vody (Lall and Lewis-McCrea, 2007). Pokud dojde k deformaci kostí, nejčastěji se tak děje v oblasti páteře a čelistí. Dále mohou být poškozeny ploutve a žábry. Deformace jsou obvykle spojeny s různými faktory při odchovu ryb. Většina provedených experimentů se zabývá vlivem teploty (viz níže), výživy (obsah minerálních látek) nebo mechanického poškození na prevalenci a incidenci tělesných deformit.

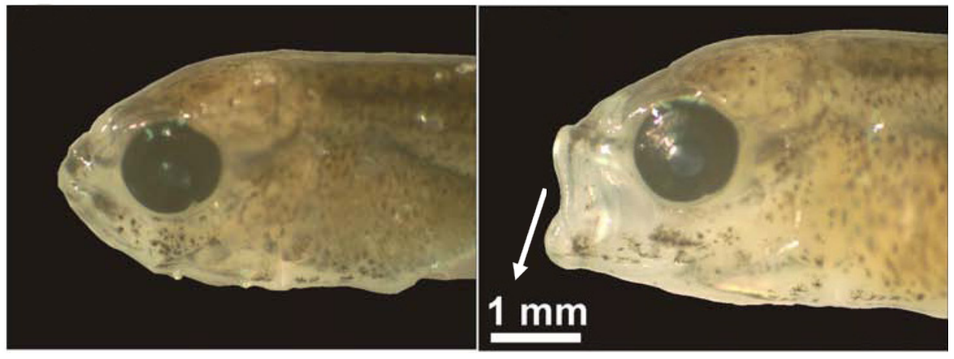
Teplota je limitujícím faktorem pro úspěšnou inkubaci jiker. Poté nastává období rané ontogeneze, ve které se rozvíjí kosterní svalovina a nastává případný výskyt deformit kostnatých ryb (Fraser a kol. 2015). To dále ovlivňuje růst a přežití (Laurel a Blood, 2011). Mnozí autoři se se zabývali efektem teploty na páteřní deformity širokého spektra ryb. Grini a kol. (2011) se zabývali chovem smoltů lososa obecného (Salmo salar) při teplotách od 10 °C do 16 °C. Ryby chované při 16 °C měly signifikantně vyšší prevalenci páteřních deformit než při 10 °C. Incidence deformovaných ryb se pohybovala mezi 3 % – 28 %. Dionísio a kol. (2012) upozorňují na význam teploty během embryonálního vývoje jazyka senegalského (Solea senegalensi). Zjistili, že incidence kosterních deformit se snížila z 80 % na 60 % při poklesu teploty z 21 °C na 15 °C. Nejvíce postižená byla oblast kaudální a nejméně kraniální oblast páteře. Georgakopoulou a kol. (2007) se zaměřovali na efekt rozdílných teplot na vývoj tělesných deformit během embryonálního a larválního stádia morčáka evropského (Dicentrarchus labrax). Zjistili, že 27,2 % – 33,4 % ryb chovaných při 15 °C měla výskyt páteřních deformit a pouze 4,0 % – 4,1 % ryb trpělo stejnou deformací při 20 °C. Při stejných teplotách nebyly pozorovány žádné deformity v oblasti čelistí a ploutví. Georgakopoulou a kol. (2010) zkoumali efekt teploty na vývoj deformit u mořana zlatého (Sparus aurata). Experiment byl prováděn u rozdílných věkových stádií ryb. Plůdku trávícího žloutkový váček, plůdku přijímajícího vnější potravu a juvenilů. Prevalence lordózy stoupala při 16 °C a kolísala se zvyšující se teplotou u plůdku trávícího žloutkový váček, plůdku přijímajícího vnější potravu. Nejnižší prevalence lordózy byla zaznamenána v případě expozice 22 °C během juvenilní periody.

Cílem práce bylo zjistit vliv rozdílného tvaru nádrží (kruhový, hranatý) a teplot (10 °C, 14 °C, 18 °C) na růst, přežití, výskyt deformit čelistí a morfometrické ukazatele plůdku síha peledě (Coregonus peled).

Deformity čelistí

Pittman a kol. (1989, 1990a) se zabývali efektem teploty a zpozorovali větší množství deformit čelistí u vyšší teploty (9 °C) v porovnání s nižší teplotou (3 °C a 4 °C). Cobcroft a kol. (2009) se zabývali malformací čelistí u plůdku trumpetníka stříbřitého (Latris lineata). Deformace čelistí zde byly přímo spojeny s jevem „walling behaviour“ v barevných odchovných nádržích krátce po dokončení metamorfózy. „Walling behaviour“ může být vyvoláno mechanickým poškozením nebo špatnou výživou v důsledku horšího příjmu potravy a výdeje energie. Nejvíce malformované čelisti byly pozorovány u plůdku chovaného uvnitř červených, zelených, bílých, modrých a černých nádrží, což korespondovalo zároveň s „walling behaviour“. Nejvyšší růst a přežití byly pozorovány uvnitř černých nádrží, nejnižší uvnitř červených nádrží. Leclercq a kol. (2011) zkoumali deformity a růstovou výkonnost triploidů lososa obecného v porovnání s diploidy. Více deformit 12 % bylo u triploidů v porovnání s diploidy 5 %. Nebyly zaznamenány žádné rozdíly v růstu a přežití mezi diploidy a triploidy. V pokusu Oppendal a kol. (2003) nebyly nalezeny žádné rozdíly v prevalenci deformit a zvýšené mortalitě mezi diploidy a triploidy. Lijalad a Powell (2009) zkoumali efekt deformace čelistí na výkonost plavání a zotavení se ze stavu vyčerpání u lososa obecného. Zjistili, že ryby s nízkou deformitou čelistí dosáhnuly téměř stejného výkonu plavání jako ostatní ryby bez deformace. Po 45 minutách ryby s deformací čelisti nebyly schopné dosáhnout stejné rychlosti plavání jako při prvním testu. Morrison a MacDonald (1995) se zabývali normálním a abnormálním vývojem čelistí plůdku atlantského halibuta (Hippoglossus hippoglossus). Byl pozorován pozdější vývoj čelistí u plůdku s poškozenou kaudální oblastí. Tyto ryby měli také značné problémy s příjmem potravy.

Obr. 1. Deformity čelistí podle Cobcroft a Battaglene (2009)



Deformity ploutví

Sfakianakis a kol. (2004) se zabývali efektem teploty na vývoj a morfologicko-anatomické abnormality u růžichy červené (Pagellus erythrinus). Ploutevní deformace byla nejvíce patrná se zvyšující se teplotou s maximem okolo 23 °C. Koumoundorous a kol. (1997) zkoumali vývoj kostí ocasní ploutve u plůdku mořana zlatého (Sparus aurata). Výzkum probíhal u extenzivně i intenzivně chovaných ryb. S růstem plůdku byly patrné deformace převážně v kaudální oblasti. Pavlov and Moksness (1996) zkoumali vliv teploty během embryonálního vývoje vlkouše obecného (Anarhichas lupus) na vývoj kostry a výsledné množství paprsků nepárových ploutví. Ryby inkubované při 7 °C měli průměrný počet paprsků v hřbetních, řitních a prsních ploutvích

a to 74, 46, 23 při porovnání s těmi co byly inkubováni při 11 °C a měly následující počet ploutevních paprsků 53, 25, 25. Zároveň při teplotě 11 °C bylo pozorováno největší množství kosterních deformací, převážně fúzí.

Materiál a metodika

Larvy síha peledě byly dovezen okamžitě po vykulení z podniku Kinského Žďár a.s. Ryby byly transportovány na Ústav akvakultury a ochrany vod, kde byly uloženy do RAS systému. Do experimentu bylo celkem nasazeno 19 200 kusů ryb při průměrné počáteční hmotnosti 1,9 mg. 800 kusů ryb bylo nasazeno do celkem 24 nádrží. 12 z nich bylo kulatého tvaru a dalších 12 hranatého tvaru. Aplikovaná teplota vody v nádržích byla 10 °C, 14 °C, 18 °C, celkem ve 4 opakováních. Celkem experiment trval 59 dní. V průběhu experimentu bylo dovezeno 145 ks rybničního plůdku rovněž z podniku Kinský Žďár a.s. Tyto ryby sloužily jako kontrolní skupina k testovaným rybám.

Po celou dobu experimentu byly udržovány následující parametry vody: pH v rozmezí 7,0 – 7,5, O_2 nasycení nad 80 %, teplota odpovídala stanovenému rozmezí, konstantní přítok 3 l × h^{-1}, udržení nízkých a zdraví či prosperitu chovu neohrožujících koncentrací $NH4^+$, $NO2^-$ a $NO3^-$, preventivní aplikace 2 kg NaCl 2 m^{-3}, výměna vody 2× týdně, odkalování 1× denně, počítání uhynulého plůdku během odkalování.

V období 1. – 21. dne byl plůdek krmen metanauplii žábronožky solné (Artemia salina) v průměru 500 - 700 kusů × $larva^{-1}$. Frekvence krmení byla každé 2 hodiny 5 – 6× denně. Technika „co-feeding" nebyla uplatněna, protože plůdek peledě je schopen okamžité adaptace na suchou krmnou směs. 22. – 40. den odchovu bylo aplikováno krmivo BioMar LARVIVA ProWean (100 µm), 41. – 59. den odchovu byla předkládána krmná směs BioMar LARVIVA ProWean (300 µm). Frekvence krmení probíhala rovněž každé 2 hodiny 5 – 6× denně.

Na konci experimentu, byly zbylé ryby foceny a konzervovány pro účely hodnocení dalších analýz. Na základě snímků byly vyhodnocovány pomocí analýzy obrazu v programu MicroImage 4.0 (Olympus) základní morfologické ukazatele ryb: celková délka (CD), standartní délka (SD), výška těla (VT), výška hlavy (VH), délka hlavy (DH) preorbitální vzdálenost (PREORBV), postorbitální vzdálenost (POSTORBV), predorzální vzdálenost (PREDORZV), preanální vzdálenost (PREANALV). Dále byla z konzervovaných ryb hodnocena hmotnost (H) a vypočítáno přežití (P). Deformity čelistí byly hodnoceny na základě porovnání pořízených snímků testovaných ryb a ryb z rybničního prostředí. Výsledné parametry byly zpracovány v program STATISTICA 12.

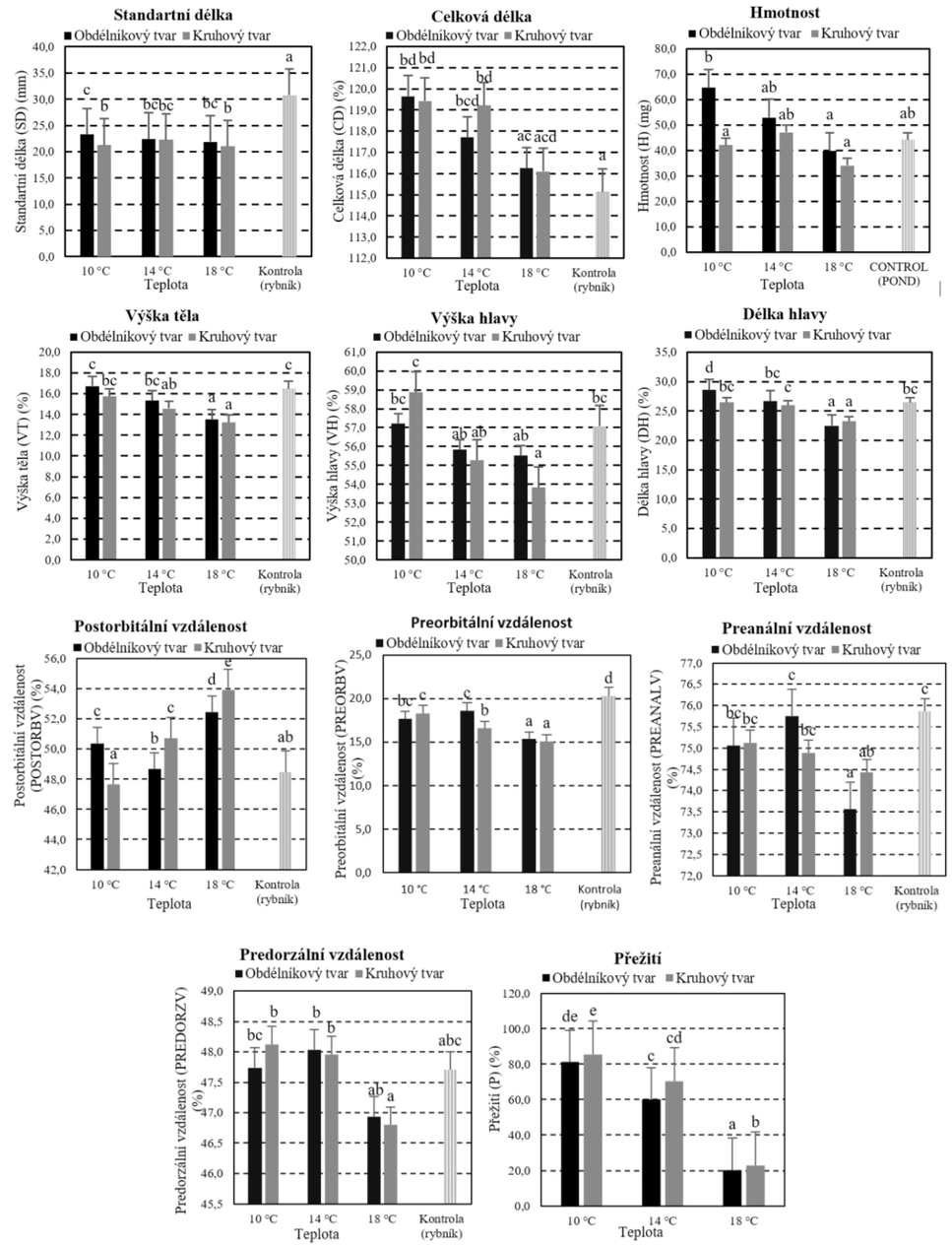
Výsledky

Grafy (Obr. 2.) zobrazuje statisticky významné rozdíly v jednotlivých morfometrických ukazatelích mezi testovanými skupinami a kontrolou na hladině významnosti $P < 0,05$. Při porovnání variability jednotlivých skupin byl použit Tukeyho test. Graf 12 vykazuje rozdíly v přežití mezi testovanými skupinami. Při porovnání skupin byl použit rovněž Tukeyho test. Odlišné indexy označují statisticky významné rozdíly, stejné indexy vykazují shodu a tedy neprůkaznost.

Z grafů nelze jednoznačně poukazovat na efekt teploty či tvaru nádrže na čelistní deformace. V případě, že by tomu bylo naopak, musely by se uvedené parametry vzájemně lišit mezi testovanými skupinami a kontrolní skupinou. Lze tak usuzovat, že pouze při teplotě 18 °C při obou tvarech nádrží může být vliv těchto faktorů na

čelistní deformace. Parametry SD, PREORBV, POSTORBV, DH, VT, VH, PREANALV se lišily při porovnání testovaných skupin s kontrolou. Dále můžeme s jistotou tvrdit, že ryby chované v rybničních podmínkách dosahují podobných hmotností jako ryby odchovávané v podmínkách RAS. Přežití je největší při 10 °C a nejnižší při 18 °C se zanedbatelným vlivem tvaru nádrže.

Obr. 2. Vliv teploty vody a tvaru nádrží na růst přežití a morfometrické ukazatele larev síha peledě.



Závěr

Výskyt čelistních deformit nelze v mnoha případech jednoznačně určit. Lze předpokládat, že interakce teploty 18 °C a obou tvarů nádrží vykazuje největší rozdíly v morfometrických ukazatelích mezi testovanými skupinami a kontrolou tudíž dochází u testovaných skupin k čelistním deformacím. Jelikož v testu nebyla hodnocena analýza důležitých minerálů (Ca, P), nelze tak zjistit, zda-li na výskyt některých čelistních deformit nemá vliv i úroveň nedostatečné osifikace. Další studie by se měly zaměřit na výzkum vlivu teploty v kombinaci s různými tvary nádrží na výskyt páteřních deformací. Zároveň pro lepší objektivitu by studie měla vyloučit působení autonomních vlivů, které by mohly ovlivňovat výsledné poznatky (nedostatečná osifikace kostry, mechanické poškození atd.).

Poděkování

Výsledky byly získány za finanční podpory MŠMT projektu CENAKVA (CZ.1.05/2.1.00/01.0024), CENAKVA II (LO1205 v rámci programu NPU I program), projektu podporovaného MZE - NAZV (QJ1210013).

Doporučená literatura

Arratia, G., Schultze, H. P., Casciotta, J., 2001. Vertebral column and associated elements in dipnoans and comparison with other fishes: development and homology. Journal of Morphology 250, 101–172.

Benfey, T. J., 2001. Use of sterile triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.) for aquaculture in New Brunswick, Canada. Journal of Marine Science and Technology 58, 525–529.

Bensimon-Brito, A., Cancela, M. L., Huysseune, A., Witten, P. E., 2012. Vestiges, rudiments and fusion events: the zebrafish caudal fin endoskeleton in an evo-devo perspective. Evolution and Development 14, 116– 127.

Cobcroft, J. M., Battaglene, S. C., 2008. Jaw malformation in striped trumpeter (Latris lineata) larvae linked to walling behaviour and tank colour, Aquaculture 289, 274-282.
Cotter, D., O'Donovan, V., Drumm, A., Roche, N., Ling, E. N., Wilkins, N. P., 2002. Comparison of freshwater and marine performances of all-female diploid and triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture Research 33, 43–53.

Dionisio, G., Campos, C., Valente, L. P. M., Conceicao, L. E. C., Cancela, M. L., Gavaia, P. J., 2012. Effect of egg incubation temperature on the occurence of skeletal deformities in Solea senegalensis. Journal of applied ichthyology 28, 471-476.

Ekanayake, S., Hall, B. K., 1988. Ultrastructure of the osteogenesis of acellular vertebral bone in the japanese medaka (Oryzias latipes Teleostei: Cyprinidontidae). American Journal of Anatomy 182, 241–249.

Fjelldal, P. G., Nordgarden, U., Hansen, T. J., 2007b. The mineral content affects vertebral morphology in underyearling smolt of Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture 270, 231–239.

Fjelldal, P. G., Meeren, T., Jørstad, K. E., Hansen, T., 2009. A radiological study on vertebral deformities in cultured and wild Atlantic cod (Gadus morhua, L.). Aquaculture 289, 6-12.

Fjelldal, P. G., Hansen, T., 2010. Vertebral deformities in triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.) underyearling smolts. Aquaculture 309, 131-136.

Fraser, T. W. K., Hansen, T., Fleming, M. S., Fjelldal, P. G., 2015. The prevalence of vertebral deformities is increased with higher egg incubation temperatures and triploidy in Atlantic salmon (Salmo salar L.). Journal of Fish Diseases 38, 75-89.

Georgakopoulou, E., Angelopoulou, A., Kaspiris, P., Divanach, P., Koumoundouros, G., 2007. Temperature effects on cranial deformities in European sea bass (Dicentrarchus labrax L.). Journal of Applied Ichthyology 23, 99-103.

Georgakopoulou, E., Kaspiris, P., Divanach, P., Koumoundouros, G., 2010. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (Sparus aurata Linnaeus, 1758). Aquaculture 308, 13-19.

Gil-Martens, L., Fjelldal, P. G., Lock, E. J., Wargelius, A., Wergeland, H., Witten, P. E., Hansen, T., Waagbo, R., Ornsrud, R., 2012. Dietary phosphorus does not reduce the risk for spinal deformities in a model of adjuvant-induced inflammation in Atlantic salmon (Salmo salar) postsmolts. Aquaculture Nutrition 18, 12–20.

Grini, A., Hansen, T., Berg, A., Wargelius, A., Fjelldal, P. G., 2011. The effect of water temperature on vertebral deformities and vaccine-induced abdominal lesions in Atlantic salmon (Salmo salar L.). Journal of Fish Diseases 34, 531-546.

Jelmert, A., Naas, K.E., 1990. Induced deformities on larvae of the Atlantic halibut (Hippoglossus hippoglossus L.). A new experimental approach. ICES CM 1990/F:45.

Kanazawa, A., Teshima, S., Inamori, S., Iwashita, T., Nagao, A., 1981. Effects of phospholipids on growth, survival rate, and incidence of malformation in the larval rearing. Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University, vol. 30, 301–309.

Koumoundouros, G., Gagliardi, F., Divanach, P., Boglione, C., Cataudella, S., Kentouri, M., 1997. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in Sparus aurata L. fry. Aquaculture 149, 215-226.

Krossoy, C., Ornsrud, R, Wargelius, A., 2009a. Differential gene expression of bgp and mgp in trabecular and compact bone of Atlantic salmon (Salmo salar L.) vertebrae. Journal of Anatomy 215, 663–672.

Kvellestad, A., Hoie, S., Thorud, K., Torud, B., Lyngoy, A., 2000. Platyspondyly and shortness of vertebral column in farmed Atlantic salmon (Salmo salar) in Norway – description and interpretation of pathologic changes. Diseases of Aquatic Organisms 39, 97– 108.

Kvellestad, A., Hoie, S., Thorud, K., Torud, B., Lyngoy, A., 2000. Platyspondyly and shortness of vertebral column in farmed Atlantic salmon (Salmo salar) in Norway – description and interpretation of pathologic changes. Diseases of Aquatic Organisms 39, 97– 108.

Lall, S. P. Lewis-McCrea, L. M., 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish – An overview. Aquaculture 267, 3–19.

Laurel, B. J.; Blood, D. M., 2011. The effects of temperature on hatching and survival of northern rock sole larvae (Lepidopsetta polyxystra). Fishery Bulletin 109, 282–291.

Leclercq, E, Taylor, J. F., Fison, D., Fjelldal, P. G., Diez-Padrisa, M., Hansen, T., Migaud, H. 2011. Comparative seawater performance and deformity prevalence in out-of season diploid and triploid Atlantic salmon (Salmo salar) post-smolts. Comparative Biochemistry and Physiology 158, 116-125.

Lein, I., Holmefjord, I., Rye, M., 1997. Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (Hippoglossus hippoglossus L.). Aquaculture 157, 121–133.

Lijalad, M., Powell, M. D., Effects of lower jaw deformity on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid and diploid Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture 290, 145-154.

Morrison, C. M., MacDonald, C. A., 1995. Normal and abnormal jaw development of the yolk-sac larva of Atlantic halibut (Hippoglossus hippoglossus). Diseases of aquatic organisms 22, 173-184.

Meunier, F. J., 2011. The Osteichtyes, from the Paleozoic to the extant time, through histology and palaeohistology of bony tissues. Comptes Rendus Palevol 10, 347–355.

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

Oppedal, F., Taranger, G. L., Hansen, T., 2003. Growth performance and sexual maturation in diploid and triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.) in seawater tanks exposed to continuous light or simulated natural photoperiod. Aquaculture 215, 145–162.

Pavlov, D. A., Moksness, E., 1996. Sensitive stages during embryonic development of wolffish (Anarhichas lupus L.) determining the final numbers of rays in unpaired fins and skeletal abnormalities. Journal of Marine Science 53, 731-740.

Piferrer, F., Beaumont, A., Falguiere, J. C., Flajshans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. Aquaculture 293, 125–156.

Pittman, K., Skiftesvik, A.B., Harboe, T., 1989. Effect of temperature on growth rates and organogenesls in the larvae of halibut (Hippogloss hippoglossus L.). Rapp P-v Reun Cons int Explor Mer 191, 421-430.

Pittman, K., Berg, O., Opstad, I., Skiftesvik, A.B., Skjolddal, L., Strand, H., 1990a. Development of eggs and yolk sac larvae of halibut (Hippoglossus hippoglossus L.). Journal of Applied Ichthyology 6, 142-160.
Powell, M. D., Jones, M. A., Lijalad, M., 2009. Effects of skeletal deformities on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid Atlantic salmon. Diseases of aquatic organisms 85, 59-66.

Preziosi, R., Gridelli, S., Borghetti, P., Diana, A., Parmeggiani, A., Fioravanti, M. L., Marcer, F., Bianchi, I., Walsh, M., Berzins, I. 2006. Spinal deformity in a sandtiger shark (Carcharias taurus Rafinesque): a clinical–pathological studyJournal of Fish Diseases 29, 49-60.

Rosenthal, H., Alderdice, D. F., 1976. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 33, 2047–2065.

Sadler, J., Pankhurst, P. M., King, H. R., 2001. High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture 198, 369–386.

Sfakianakis, D. G.; Koumoundouros, G.; Divanach, P.; Kentouri, M., 2004. Osteological development of the vertebral column and of the fins in Pagellus erythrinus L. 1758. Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. Aquaculture 232, 407–424.

Sullivan, M., Hammond, G., Roberts, R. J., Manchester, N. J., 2007. Spinal deformation in commercially cultured Atlantic salmon (Salmo salar L.): a clinical and radiological study. Journal of Fish Diseases 30, 745-752.

Suzuki, T., Srivastava, A. S., Kurokawa, T., 2000. Experimental induction of jaw, gill and pectoral fin malformations in Japanese flounder (Paralichthys olivaceus) larvae. Aquaculture 185, 175–187.

Villeneuve, L., Gisbert, E., Delliou, H. L., Cahu, C. L., Zambonino-Infante, J. L., 2005. Dietarylevels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. British Journal of Nutrition 93, 791–801.

Withler, R. E., Beacham, T. D., Solar, I. I., Donaldson, E. M., 1995. Freshwater growth, smolting, and marine survival and growth of diploid and triploid coho salmon (Oncorhynchus kisutch). Aquaculture 136, 91–107.

Witten, P. E., Hall, B. K., 2002. Differentiation and growth of kype skeletal tissues in anadromous male Atlantic Salmon (Salmo salar). The International Journal of Developmental Biology 46, 719–730.

Witten, P. E., Gil-Martens, L., Hall, B. K., Huysseune, A., Obach, A., 2005. Compressed vertebrae in Atlantic salmon (Salmo salar): evidence for metaplastic chondrogenesis as a skeletogenic response late in ontogeny. Diseases of Aquatic Organisms 64, 237–246.

Witten, P. E., Obach, A., Huysseune, A., Beverfjord, G., 2006. Vertebrae fusion in Atlantic salmon (Salmo salar): development, aggravation and pathways of containment. Aquaculture 258, 164–172.

VLIV TEPLOTY VODY A KONCENTRACE KYSLÍKU NA VÝSLEDKY CHOVU SÍHA PELEDĚ V INTEZIVNÍ AKVAKULTUŘE

J. Matousek*, M. Prokesova, K. Novikava, R. Sebesta, E. Zuskova, J. Kouril & V. Stejskal

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav akvakultury, Česká republika.

Úvod

V současnosti domácí produkce sladkovodních ryb stagnuje. Jednou ze strategií, která by mohla zlepšit současný stav, je zintenzivnění produkce různých druhů ryb chovaných ve speciálních rybářských objektech jako jsou energeticky efektivní recirkulační systémy (RAS, RAS-Dánského typu). Tento způsob chovu umožňuje vyprodukovat velkou biomasu ryb z relativně malého odchovného prostoru. Další výhodou tohoto chovu je produkce tržních ryb během celého roku s možností rozšíření spektra nabízených ryb na trhu. Tato diverzifikace by měla být cílená na původní nebo zdomácnělé druhy ryb s vysokou kvalitou masa. Mezi takovéto perspektivní druhy se dají zařadit i síhovité ryby. V našem případě se jedná o síha marénu (*Coregonus lavaretus maraena*) a síha peledě (*Coregonus peled*) nebo jejich hybridi, kteří mají vysokou kvalitu masa s vysokým obsahem n-3 nenasycených masných kyselin (*Orban et al*. 2006). Tyto druhy byly u nás produkované v hojné míře v rybniční akvakultuře. Bohužel tento způsob chovu je do značné míry nejistý a potýká se s řadou problému v průběhu odchovu, přičemž celková roční produkce má v České republice stále klesající trend. Hlavním problémem jsou rybožraví predátoři, kteří dokáží zlikvidovat celé obsádky. Těmto problémům by se dalo předejít dobře zvládnutou technologií chovu jednotlivých druhů ryb v těchto speciálních systémech.

Síhovité ryby jsou oblíbené a regionálně preferované v některých státech jako je například Německo, Polsko, Finsko, Rusko, Švédsko atd. (Järvinen 1988; Kahilainen *et al.* 2003; Hayden *et al*. 2013). Zoo-technické postupy se neustále vylepšují a přizpůsobují prostředí specifickým požadavkům ryb a tím celkově zintenzivňují produkci.

Cílem této práce bylo zjistit vliv některých abiotických faktorů jako je teplota a hladina nasycení vody kyslíkem na přežití a růstový potenciál síha peledě v RAS systému.

Metodika

Vliv teploty na růst a produkční ukazatele u juvenilních peledí

Škála testovaných teplot byla nastavená v rozmezí, které se může aplikovat v chovu síhů našeho teplotního pásu. Celkem bylo založeno 5 experimentálních skupin označených příslušnou teplotou T (25, 22, 19, 16 a 13 °C) a každá byla provedena ve 3 opakováních. Počáteční průměrná hmotnost juvenilních ryb byla 0,60 ± 0,04 g (stáří: 75 dní od vykulení). Tyto ryby byly nasazeny v počtu 160 ks ryb na nádrž (celkem 15 nádrží). Teplota vody byla měřena třikrát denně a to v 8:00 h, 14:00 h a 18:00 h. Nasycení vody kyslíkem a pH bylo sledováno 2 x denně. Amoniak a dusitany byly stanovovány v dvoudenních intervalech. V průběhu experimentu nasycení vody kyslíkem u všech teplot neklesalo pod 80 % a pH se pohybovalo na úrovni 7,1 ± 0,3. Teplota se průměrně držela v jednotlivých skupinách za celý pokus: T13 – 13 ± 0,4 °C, T16 – 15,9 ±0,3 °C, T19 – 19,3 ± 0,6 °C, T22 – 22 ± 0,2 °C, T25 – 24,8 ± 0,3 °C.

Krmení bylo podáváno ručně v nadbytku z předem připravené denní krmné dávky, které byla vypočítána z biomasy ryb. V pokusu bylo použité suché krmivo značky Inicio Plus G 0.6 mm s následujícím nutričním složením: 62% protein, 13% tuk, 8,9% sacharidy. Krmení probíhalo ve dvouhodinových intervalech od 8:00 h do 18:00.

Každá skupina byla chována v samostatném recirkulačním systému o objemu 650 L jehož součástí byl mechanický filtr, biologický ponořený filtr (objem 300 l, filtrační médium Bioakvacit). Součástí systému byly průtokové chladiče (Hailea 1000A) či topítka (Eheim – Jager, 300 w) a kontrolní jednotky pro udržení požadovaných teplot. Odchovné nádrže měly objemem 40 l, které byly uzpůsobené ke sběru a kvantifikaci nespotřebovaného krmiva pomocí sedimentační kónusů v zadní části nádrže. Průtok vody byl v každé nádrži nastaven na 80 l za hodinu. Světelný režim byl nastaven na 12 h světlo : 12 h tma (7:00-19:00) s intenzitou 110 – 140 luxů.

Experiment probíhal 63 krmných dní od 24. června do 26. srpna. Toto období bylo rozděleno do 4 dílčích period. Na konci každé periody bylo provedeno kontrolní přelovení při kterém byla měřena biometrika u 50 ryb z každé nádrže. Během tohoto zásahu byly ryby šetrně anestezovány pomocí lázně hřebíčkového oleje o koncentraci 0,01 - 0,02 $ml.l^{-1}$. Naměřená data byla zpracována a převedena na zootechnické ukazatele jako je procentuální přežití ryb (%), hmotnostní růst (g), specifická rychlost růstu SGR ($\%.d^{-1}$), konverze krmiva FCR, kondiční stav.

V následném experimentu bylo testováno 5 různých teplot podobně jako v prvním experimentu. Test byl proveden na starších peledí o průměrné hmotnosti 13,7 ± 2,9 g (stáří: 230 dní od vykulení). Na každou nádrž bylo nasazeno 50 ks. Bylo podáváno suché krmivo značky Inicio Plus 1.5 mm s následujícím nutričním složením: 54 % protein, 22 % tuk, 8,8 % sacharidy. Režim experimentu a přelovení probíhal stejným způsobem jako u předchozího experimentu. Součástí tohoto experimentu bylo sledování denního příjmu krmiva za nádrž podle následujícího postupu:

DPK = N-NSK – (Pg x Wg)

DPK = denní příjem krmiva za nádrž
N = navážka suchého krmiva
NSK = hmotnost nespotřebovaného suchého krmiva
Pg = počet odkalených granulí
Wg = průměrná hmotnost jedné granule

Vliv různých hladin nasycení vody kyslíkem na růst, produkční a hematologické ukazatele u juvenilních peledí:

V tomto experimentu byly sledované 4 různé skupiny nasycení a to hypoxie (HYPo) - 55-65 %, normoxie (NORm) - 80-95 %, hyperoxie permanentní (HYPe) - 145-155 % po celý den a střídavá hyperoxie (HYPe±) - 145-155 % ve světelné část dne a 80-95 % během noci. Každá skupina byla provedena ve třech opakováních. Odchovné nádrže (40 L) byly napojené na recirkulační systém o objemu 2380 L jehož součástí byl mechanický bubnový filtr, usazovací nádrž, biologický ponořený filtr (filtrační médium Bioakvacit). Tento systém byl vybaven přídavným směšovacím zařízením vody s plyny. Toto zařízení vlastní konstrukce se skládalo ze dvou směšovacích věží s mediem (Bioakvacit) na které byly napojené tlakové láhve s manometrem a průtokoměrem. Hyperoxie byla navozena dávkováním kyslíku do jednoho ze směšovačů. Hypoxie byla navozena dávkováním dusíku do druhého směšovače, který vytěsnil kyslík. Z těchto směšovačů byla voda rozvedena do jednotlivých odchovný nádrží. Normoxie byla navozena silnou aerací v odchovné nádrži.

Střídavá hyperoxie byla provedena pomocí dvou přítoků (normoxie a hyperoxie), které se během dne přepínaly.

Do experimentu byly nasazeny juvenilní peledě o průměrné hmotnosti 3,1 ± 0,8 g. V režimu experimentu byla třikrát denně sledována hladina nasycení vody kyslíkem (8:00 h, 14:00 h a 18:00 h). Teplota a pH byly monitorovány dvakrát denně. Koncentrace amoniaku a dusitanů byly stanovovány v dvoudenních intervalech.

Krmení bylo předkládáno ručně z předem připravených denních krmných dávek vypočítaných z biomasy ryb. Ryby byly krmné způsobem do zjevného nasycení ve dvouhodinových intervalech od 8:00 h do 18:00. Předkládané suché krmivo bylo značky Inicio Plus G 0.6 mm s následujícím nutričním složením: 62% protein, 13% tuk, 8,9% sacharidy.

Průtok vody byl v každé nádrži nastaven na 80 l za hodinu (obměna vody 2x za hodinu). Světelný režim byl nastaven na 12 h světlo : 12 h tma (7:00-19:00) s intenzitou 110 – 140 luxů.

Experiment probíhal 63 krmných dní od 11. července do 12. září, které byly rozděleny do 4 období. Na konci každého období bylo provedeno kontrolní přelovení, při kterém byla měřena biometrika 50 ryb z každé nádrže. Během tohoto zásahu byly ryby anestezovány pomocí hřebíčkového oleje o koncentraci 0,01 - 0,02 $ml.l^{-1}$. Data byla zpracována a převedena na zootechnické ukazatele jako je procentuální přežití ryb (%), hmotnostní růst (g), specifická rychlost růstu SGR ($\%.d^{-1}$), konverze krmiva FCR. Na konci experimentu byla rybám odebraná krev, ze které byl stanoven krevní obraz CBC (Hematokritová hodnota - PCV, hladina hemoglobinu - Hb, počet bílých krvinek -WBC a počet červených krvinek- RBC. Postup tohoto vyšetření byl proveden podle metodiky Metody hematologického vyšetřování ryb (Svobodova et al. 1991).

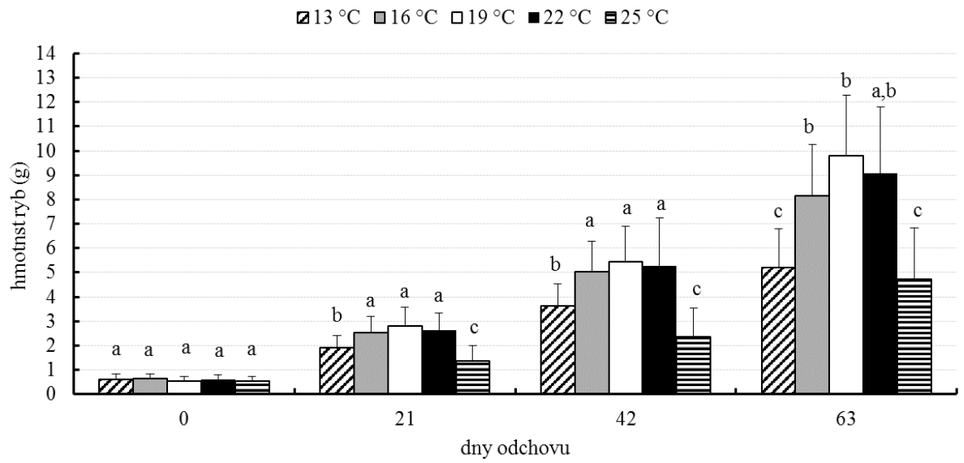
Výsledky a diskuze

Vliv teploty na růst a produkční ukazatele juvenilních ryb ve věku 75 dní po vykulení

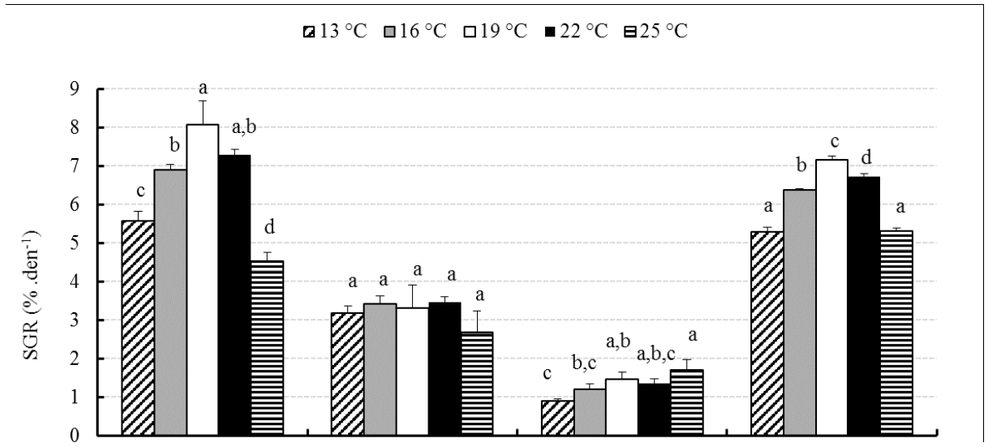
Růst síha peledě byl vyjádřen jako individuální hmotnostní růst (Obr. 1) a jako specifická rychlost růstu SGR (Obr. 2). Již po 21 dnech odchovu byl zjištěn významně nižší růst u skupiny ryb chovaných při 13 a 25 °C. Na konci experimentu byl pozorován největší růst u skupiny s teplotou 19 °C, ale tento rozdíl nebyl statisticky průkazný v porovnání s teplotami 16 a 22 °C. Největší specifický růst v průměru za celý experiment byl sledován u skupiny s teplotou vody 19 °C, následovaly skupiny s teplotou 22 °C a 16 °C. Tyto rozdíly byly statisticky průkazné. Wunderlich et al. (2011) doporučuje optimální teplotu 18.0 ± 0.7 °C pro intenzivní chov síha severního (Coregonus lavaretus L), který je více citlivý na kvalitu a vyšší teplotu vody ve srovnání s peledí.

Procentuální přežití, kondiční stav a konverze krmiva jsou prezentované v tabulce č. 1. Na konci experimentu bylo statisticky průkazně nejnižší přežití ve skupině s teplotou 25 °C. Rozdíly v přežití u ostatních testovaných teplot byly statisticky neprůkazné. Kondiční stav ryb na začátku experimentu byl mezi skupinami vyrovnaný. Na konci testování byl sledován průkazně lepší kondiční stav u ryb ve skupinách 19, 22, 25 °C. Nejmenší koeficient konverze krmiva byl pozorován u skupiny s teplotou 19 °C a následovala teplota 16 °C. U skupiny 25 °C došlo k rapidnímu nárůstu konverze krmiva. To bylo zapříčiněno vysokou mortalitou ryb a tím i úbytek biomasy v nádrži což zapříčinilo zkreslení výsledku koeficientu FCR.

Obr. 1. Růst juvenilního síha peledě (stáří 75 dní po vykulení) v závislosti na různé teplotě vody vyjádřený pomocí průměrné hmotnosti ryby (n=3). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka (chybová úsečka).



Obr. 2. Specifické rychlosti růstu síha peledě (stáří 75 dní po vykulení) (n=3). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka (chybová úsečka).



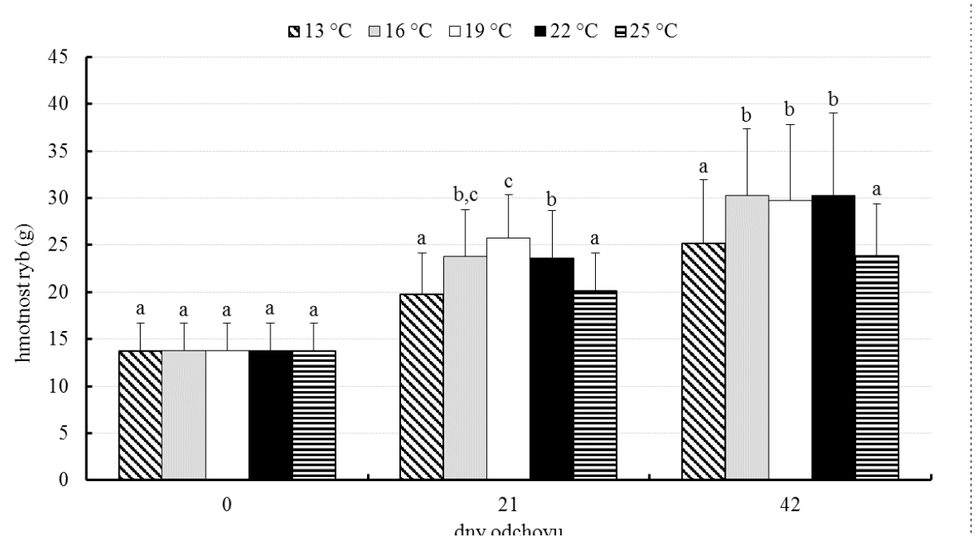
Tab. 1. Přežití, kondiční stav a konverze krmiva FCR u juvenilního síha peledě (75 dní po vykulení) v závislosti na různé teplotě vody. Data jsou prezentována jako průměr (n=3) a směrodatná odchylka.

Dny odchovu	Teplota (°C)	13	16	19	22	25
Den 63	přežití (%)	92,9 ± 5,6 a	93,3 ± 2,1 a	92,1 ± 4,0 a	77,1 ± 9,8 a	29,6 ± 6,2 b
Den 0	FC - kondiční stav	0,68 ± 0,2 a	0,65 ± 0,2 a	0,69 ± 0,2 a	0,65 ± 0,2 a	0,64 ± 0,2 a
Den 63	FC - kondiční stav	0,83 ± 0,0 a	0,87 ± 0,2 a	0,92 ± 0,1 b	0,97 ± 0,1 b	0,92± 0,2 b
Den 63	FCR	1,75 ± 0,09 a	1,58 ± 0,05 a	1,45 ± 0,04 b	1,72 ± 0,25 b	7,18± 2,59 b

Vliv teploty na růst a produkční ukazatele juvenilních ryb ve věku 230 dní po vykulení

Růst síha peledě byl vyjádřen jako individuální hmotnostní růst v gramech (Obr. 3). Po 21 dnech byl již sledován statistický rozdíl v růstu, kde ryby v teplotách 13 a 25 °C zaostávaly oproti ostatním testovaným skupinám. Vyrovnaný růst byl pozorován ve skupinách s teplotou vody 16, 19 a 22 °C na konci experiment. Szczepkowski *et al.* (2006) došel k podobným výsledkům u síha marény, kde juvenilové vykazovali vyšší růst v teplotním rozmezí od 20 do 22°C.

Obr.3. Růst juvenilního síha peledě (230 dní po vykulení) v závislosti na různé teplotě vody vyjádřený pomocí průměrné hmotnosti ryby (n=3). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka (chybová úsečka).

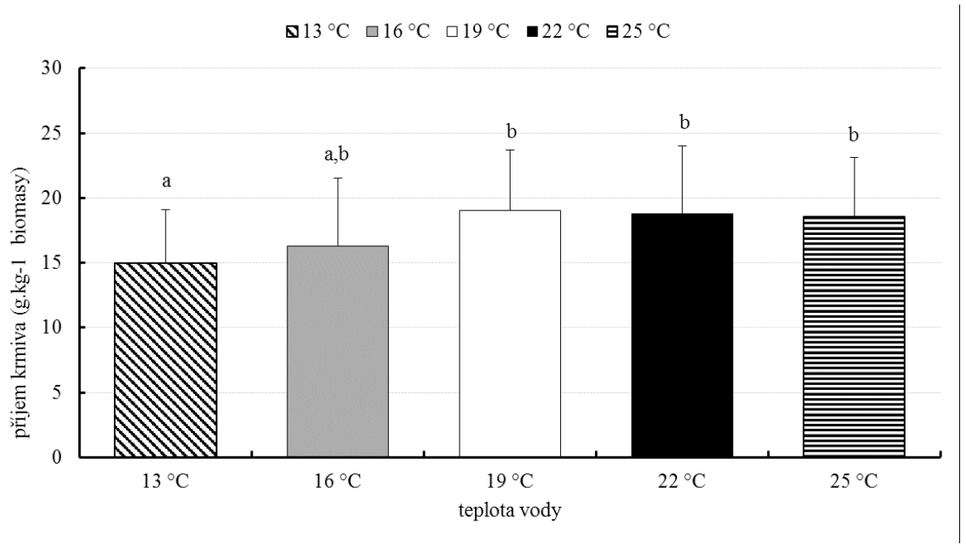


Procentuální přežití, specifická rychlost růstu, kondiční stav a konverze krmiva jsou prezentovány v tabulce č. 2. Nejnižší přežití bylo pozorováno ve skupině s teplotou 25 °C. Největší specifická rychlost růstu byla ve skupině s teplotou 19°C a 22 °C. Kondiční stav ryb na začátku experimentu byl mezi skupinami vyrovnaný. Na konci testování byl sledován průkazně lepší kondiční stav u ryb ve skupinách 19, 22, 25 °C oproti skupině 16 a 13 °C. Koeficient konverze krmiva byl vyrovnaný ve skupinách s teplotou 13,16, a 19 °C. Průkazně vyšší FCR bylo u skupiny 22 °C. FCR u skupiny 25 °C nebylo možno prezentovat. Tato chyba nastala díky vysoké mortalitě ryb a tím i úbytek biomasy v nádrži což zapříčilo chybnou kalkulaci FCR. Příjem krmiva byl prezentován jako množství přijatého krmiva v gramech na kilogram biomasy ryb (Obr.4). Zde byl pozorován trend většího příjmu krmiva u skupin s vyšší teplotou, přičemž rozdíly mezi 19, 22 a 25 °C nebyly statisticky průkazné. Průkazně nižší příjem krmiva byl u skupiny 13 °C. Szczepkowski et al. (2006) neprokázal významné rozdíly ve zvýšení příjmu krmiva u síha marény mezi testovanými teplotami 20, 22 a 24 °C

Tab. 2. Přežití, specifická rychlost růstu, kondiční stav a konverze krmiva FCR u juvenilního síha peledě (230 dní po vykulení) v závislosti na různé teplotě vody. Data jsou prezentována jako průměr (n=3) a směrodatná odchylka.

Dny odchovu	Teplota (°C)	13	16	19	22	25
Den 42	přežití (%)	97,5 ±2,5 a	88,3 ±5,8 a,b	89,2 ±1,4 a,b	70,8 ±18,8 b	40,8 ±6,3 c
Den 0-42	SGR (%.d^{-1})	1,50 ±0,15 a,c	1,96 ±0,16 a	2,15 ±0,11 b	1,96 ±0,28 a,b	1,37 ±0,14 c
Den 0	FC	0,82 ±0,2 a	0,82 ±0,2 a	0,82 ±0,2 a	0,82 ±0,2 a	0,82 ±0,2 a
Den 42	FC	0,93 ±0,1 a	0,94 ±0,0 a	0,98 ±0,1 b	0,98 ±0,2 b	0,99 ±0,1 b
Den 42	FCR	1,28 ±0,2 a	1,02 ±0,1 a	1,16 ±0,1 a	1,95 ±0,1 b	-

Obr. 4. Příjem krmiva v gramech na kilogram biomasy síha peledě (230 dní po vykulení) v závislosti na různé teplotě vody. Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka (chybová úsečka).



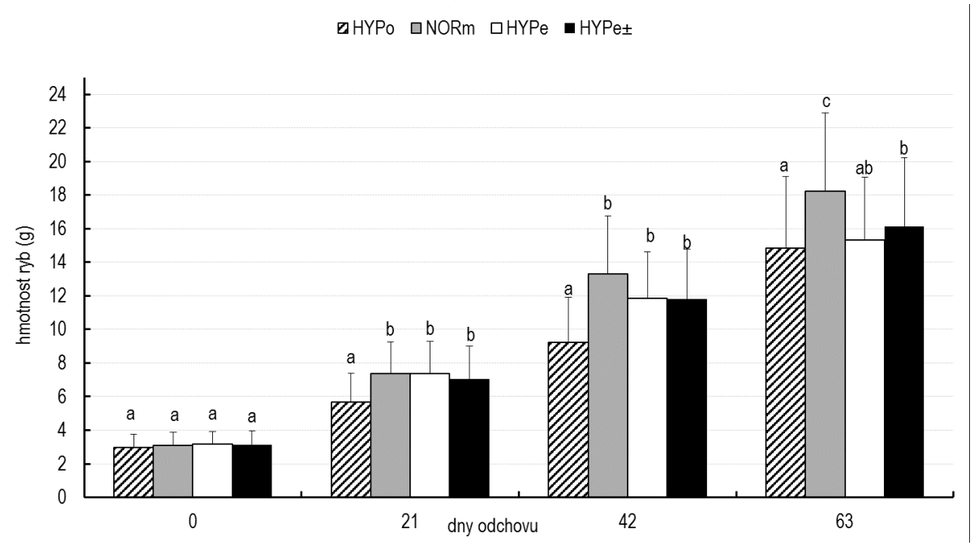
Vliv nasycení vody kyslíkem na růst a produkční ukazatele juvenilních ryb ve věku 230 dní po vykulení

Aplikace čistého kyslíku do vody má značný potenciál v recirkulačních systémech pro zlepšení chovný podmínek a zintenzivnění chovu (Dwyer *et al.*, 1991; Wajsbrot *et al.*, 1991). Obecně nízká hladina kyslíků má za následek zvýšení stresu u vodní organizmů s následkem snížení příjmu krmiva a růstu ryb přičemž může dojít i ke zhoršení kondice a zdravotní stavu ryb až k úhynu (Batiuk *et al.* 2009). Na druhou stranu Dabrowski *et al.* (2004) uvádí pozitivní efekt hyperoxie (180%) na růst pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*).

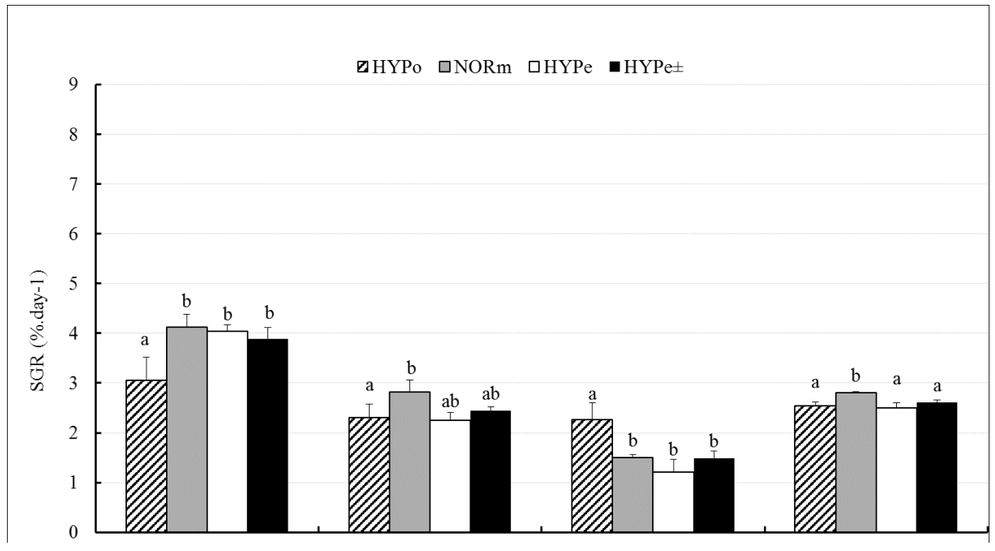
Růst síha peledě je vyjádřen jako hmotnostní růst (Obr. 5) a jako specifická rychlost růstu SGR (Obr. 6). Již po 21 dnech odchovu byl zjištěn významně nižší růst u skupiny ryb chovaných v hypoxii. Na konci experimentu byl nevětší růst sledován u skupiny normoxie. Hmotnostní rozdíly mezi hyperoxií stálou a střídavou nebyly statisticky průkazné. Nejvyšší průměrná SGR za celý experiment byla ve skupině normoxie. SGR v ostatní sledovaných skupinách byla vyrovnaná a rozdíly nebyly

průkazné. Z výsledků celého pokusu je zřejmé že chov peledí v hyperoxických podmínkách nepřináší benefit v podobě rychlejšího růstu. Na konci pokusu bylo zjištěno statisticky významně nižší přežití při chovu peledí v hypoxii (Tab. 3). Ostatní testované kyslíkové režimy se od sebe statisticky nelišily. Proto lze konstatovat, že saturace kyslíku v rozsahu (85 – 155% nasycení) nemá vliv na přežití, na rozdíl od nižší úrovně nasycení vody kyslíkem (55-65 %).

Obr. 5. Růst juvenilního síha peledě v závislosti na různém kyslíkovém režimu vyjádřený pomocí průměrné hmotnosti ryby (n=3). Data jsou prezentována jako průměr (sloupec) a směrodatná odchylka (chybová úsečka).



Obr. 6. Růst juvenilního síha peledě v závislosti na různém kyslíkovém režimu vyjádřený pomocí specifické rychlosti růstu za nádrž (n=3). Data jsou prezentována jako průměr (sloupec) a směrodatná odchylka (chybová úsečka).



Rozdíly konverze krmiva u všech testovaných saturací nebyly statisticky významné, a proto lze konstatovat, že vyšší hladina kyslíku nemá vliv na konverzi krmiva u peledě. Kondice ryb byla vyšší u skupiny normoxie a střídavé hyperoxie na konci experimentu. Ve skupinách trvalá hyperoxie a hypoxie byl koeficient kondice významně nižší.

Rovněž byly zjištěny rozdíly v hematologických ukazatelích (Tab. 4.). Počet červených krvinek byl statisticky významně snížený ve skupině střídavá hyperoxie. Přesto však hodnoty červených krvinek u všech testovaných skupin se nacházely v rozsahu 0,80 – 1,50 $T.l^{-1}$, který udává Svobodova *et al.* (1991) u zdravého pstruha duhového.

Statistické rozdíly nebyly potvrzeny u počtu bílých krvinek a lze konstatovat, že saturace vody kyslíkem nemá vliv na počet bílých krvinek. Hematokritová hodnota a koncentrace hemoglobinu měly obdobný trend u sledovaných režimů kyslíku. V obou hyperoxií byly významně snížené hodnoty jak hemoglobinu, tak i hematokritu oproti normoxii. Svobodova *et al.* (1991) prezentuje obsah hemoglobinu u pstruha duhového v rozmezí 60 – 100 $g.l^{-1}$

Tab. 3. Přežití (n=3), konverze krmiva a kondiční stav juvenilního síha peledě v závislosti na různém kyslíkovém režimu. Data jsou prezentována jako průměr (sloupec) a směrodatná odchylka (chybová úsečka).

dny odchovu	saturace	HYPo	NORm	HYPe	HYPe±
Den 63	přežití (%)	87,5 ±3,0 b	97,7 ±2,7 a	96,3 ±2,1 a	97,2 ±1,0 a
Den 0-63	FCR	2,06 ±0,46 a	2,18 ±0,15 a	1,83 ±0,09 a	1,74 ±0,03 a
Den 63	FC-kondiční stav	0,90 ±0,1 a	1,02 ±0,1 b	0,83 ±0,13 c	1,00 ±0,09 b

Tab. 4. Počet červených krvinek (RBC), počet bílých krvinek (WBC), hematokritová hodnota (PCV) a hladina hemoglobinu (Hb) u juvenilního síha peledě v závislosti na různém kyslíkovém režimu (n=15). Data jsou prezentována jako průměr (sloupec) a směrodatná odchylka.

CBC		HYPo	NORm	HYPe	HYPe±
RBC	$T.l^{-1}$	1,18 ±0,35 a	1,06 ±0,13 ab	1,04 ±0,22 ab	0,88 ±0,20 b
WBC	$G.l^{-1}$	15,27 ±4,25 a	16,69 ±4,90 a	23,08 ±12,21 a	23,39 ±11,14 a
PCV	$l.l^{-1}$	0,55 ±0,04 a	0,58 ±0,05 a	0,48 ±0,06 b	0,54 ±0,09 ab
Hb	$g.l^{-1}$	67,20 ±5,80 a	64,22 ±5,78 a	55,00 ±5,72 b	51,35 ±10,89 b

Závěr

Testované teploty neměly výrazný vliv na přežití síha peledě kromě teploty 25 °C, která se jeví jako nevhodná pro chov tohoto druhu. Rozsah teplot pro efektivní růst peledě (stáří 75 dní po vykulení) byl v rozmezí 19 až 22 °C a u starších síhů (stáří 230 dní po vykulení) v rozsahu 16 až 22 °C. Ryby nejvíce přijímaly krmivo v rozmezí teplot 19 – 25 °C. Z těchto výsledků vyplývá, že se optimální teplota pro chov síha peledě v RAS se pohybuje v rozmezí 19 až 22 °C.

Aplikace kyslíku do vody pro navození hyperoxického prostředí neměla vliv na přežití ani růst síhů. Nebyl ani prokázán rozdíl mezi trvalou a střídavou hyperoxií. Tato technologie by se dala využít u vysokých obsádek pro eliminaci hypoxického prostředí,

které má významný negativní vliv na chov. Z výsledků hematologického vyšetření vyplývá, že hyperoxie má vliv na snížení obsahu hemoglobinu v erytrocytech.

Poděkování

Výsledky byly získány za finanční podpory MŠMT projektu CENAKVA (CZ.1.05/2.1.00/01.0024), CENAKVA II (LO1205 v rámci programu NPU I program), projektu podporovaného MZE - NAZV (QJ1210013) a projektu Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích GAJU (060/2016/Z).

Literatura

Batiuk R.A., Breitburg D.L., Diaz R.J., Cronin T.M., Secor D.H. & Thursby G. (2009) Derivation of habitat-specific dissolved oxygen criteria for Chesapeake Bay and its tidal tributaries. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **381**, 204–215.

Dabrowski K., Lee K-J., Guz L., Verlhac V. & Gabaudan J. (2004) Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture* **233**, 383–392.

Dwyer W.P., Colt J. & Owsley D.E. (1991) Effectiveness of injecting pure oxygen into sealed columns for improving water-quality in aquaculture. *Progressive Fish Culturist* **2**, 72-80.

Hayden B., Harrod C. & Kahilainen K.K. (2013) The effects of winter ice cover on the trophic ecology of whitefish (Coregonus lavaretus L.) in subarctic lakes. *Ecology of Freshwater Fish* **22,** 192-201.

Järvinen A. (1988) Proceedings of the international symposium on biology and management of Coregonids. *Finnish Fisheries Research* **9**, 1-527.

Kahilainen K., Lehtonen H. & Könönen K. (2003) Consequence of habitat segregation to growth rate of two sparsely rakered whitefish (Coregonus lavaretus L.) forms in a subarctic lake. *Ecology of Freshwater Fish* **12**, 275-285.

Orban E., Masci M., Nevigato T., Di Lena G., Casini I., Caproni R., Gambelli L., De Angelis P. & Rampacci M. (2006) Nutritional quality and safety of whitefish (Coregonus lavaretus) from Italian lakes. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**, 737–746.
Svobodova Z., Pravda D., Palackova J. (1991) Unified methods of haematological examination of fish. *Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology*, Vodnany, Methods No. **20**, pp. 31.

Szczepkowski M., Sczepkowska B. & Krzywosz T. (2006) The impact of water temperature on selected rearing indices of juvenile whitefish (Coregonus lavaretus L.) in a recirculating system. *Archives of Polish Fisheries* **14**, 95-104.

Wajsbrot N., Gasith A., Krom M.D. & Popper D.M. (1991) Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream (Sparus aurata) under reduced oxygen levels. *Aquaculture* **92,** 277–288.

Wunderlich K., Szepkowska B., Szcepkowski M., Kozłowski M. & Piotrowska I. (2011) Impact of daily feed rations for juvenile common whitefish (Coregonus lavaretus L.), on rearing indicators and oxygen requirements. *Archives of Polish Fisheries* **19**, 23-30.

FREKVENCE VÝSKYTU DEFORMIT A MORFOMETRICKÁ CHARAKTERISTIKA SÍHA PELEDĚ *COREGONUS PELED* (GMELIN) ODCHOVANÉHO V PODMÍNKÁCH INTENZIVNÍHO A EXTENSIVNÍHO CHOVU

V. Stejskal, J. Matoušek, R. Šebesta, T. Vanina, M. Prokešová, P. Podhorec

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Ústav akvakultury a ochrany vod, Husova tř. 458/12, 370 05 České Budějovice

1. Úvod do problematiky

Síhové jsou populárními konzumní rybami hlavně v Ruské federaci, Finsku, Kanadě Polsku, Německu, České republice, Japonsku a Itálii, (Dabrowski a kol., 2002; FAO, 2007). Síh peleď (*Coregonus peled* Gmelin) je spíše chladnomilný sladkovodní druh, který může být za jistých okolností považován za vhodného kandidáta pro rozšíření spektra intenzivně chovaných ryb ve vnitrozemské akvakultuře, zejména pro recirkulační akvakulturní systémy (RAS) v chladnějších oblastech (Švinger a Kouřil, 2014; Matoušek a kol., 2016). V některých zemích již započaly aktivity vedoucí k nastavení technologie intenzivního chovu síha marény (*Coregonus lavaretus L.*) nebo peledě v různých produkčních systémech. Příkladem jsou klecové chovy v Polsku či Finsku nebo recirkulační akvakulturní systémy v Polsku a Německu. Pokud jde o síha peledě, tak existuje jen minimum studií spojených s intenzivním chovem (Wunderlich a kol., 2011; Matoušek a kol., 2016).

Cílem příspěvku je popsat problém výskytu deformit v intenzivním chovu síha peledě, včetně souvisejících aspektů a diskutovat možné příčiny v s dostupnou literaturou.

2. Materiál a metodika

Oplozené jikry síha peledě, původem od 15 jikernaček a 15 mlíčáků, byly inkubovány v líhni Kinský Žďár, a. s.r.o., (Žďár nad Sázavou, Česká republika) při teplotě 4 - 10 ° C. Nově vylíhlé larvy byly převezeny do laboratoře Ústavu akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích. Po dobu prvních čtyř dnů po transportu larev bylo provedeno postupné zvyšování teploty vody z 10 na 14 ° C. Při následném odchovu byla teplota vody 14,0 ± 0,5 ° C, hodnota pH 7,3 ± 0,3 a koncentrace kyslíku byla udržována na hodnotách 8,4 ± 0,5 mg L^{-1}. Od 4. do 20. dne po vylíhnutí byly larvy krmeny čerstvě inkubovanými naupliemi *Artemia sp.* a 21. den po vylíhnutí byly larvy skokově převedeny na kompletní krmnou směs. Vlastní odchov larev probíhal v malém RAS systému, který se skládal z devíti plastových obdélníkových nádrží (objem 60 L), bubnového filtru KC-10 (Koi-Collection, Malajsie), biologického filtru s pohyblivým médiem (celkový objem 500 L, RATZ BT10 - Ratz Aquaculture GmbH, Remscheid, Německo) a průtokového chladiče (Hailea HC - 1000A, Hailea Group Co. Ltd, Guangdong, Čína).

Při dosažení individuální hmotnosti 0,6 ±0,2 g byly ryby o celkovém počtu 3 500 ks rovnoměrně rozděleny a nasazeny do odchovných nádrží. V tomto období byla počáteční biomasa ryb 4,2 ± 0,1 kg m^{-3} a konečná biomasa ryb byla 25 ± 1,4 kg m^{-3}. Ryby byly chovány při teplotě vody 18,9 ± 0,5 ° C, pH 6,90 ± 0,40 a koncentraci kyslíku nad 85 %. V další fázi odchovu byly větší ryby (průměrná individuální hmotnost 15 g) nasazeny do většího RAS systému, který se skládal z 12 plastových pravoúhlých

nádrží (300 L), bubnového filtru KC-10 (Koi-Collection, Malajsie) a biologického filtru s pohyblivým médiem (celkový objem 4000 L, Ratz BT10).

Vyhodnocení frekvence procentuálního výskytu deformit páteře a operkula bylo provedeno vizuální kontrolou celkového počtu 2436 ryb chovaných v celkem 12 experimentálních nádržích (tj. 185 až 221 ryb bylo zkontrolováno v každé nádrži).

Morfometrické porovnání na základě radiografických snímků bylo provedeno u tří skupin ryb o individuální hmotnosti 55 až 81 g. Ryby byly rozděleny do dvou skupin na základě vizuálního posouzení jednoho pozorovatele. První skupinou byly normálně vyvinuté (bez zjevných deformit) intenzivně chované ryby (IN; věk 1+; n = 33). Druhou skupinou byly deformované (se zjevnými deformitami) intenzivně chované ryby (ID; věk 1+; n = 33). Kontrolní skupinou pro intenzivně chované ryby byla skupina ryb (CP; věk 1+; n = 33) pocházející z rybničního chovu (společnost Kinský Žďár, a.s.). Po anestezii ryb v lázni z hřebíčkového oleje (0,2 ml L^{-1}) byly pořízeny rentgenové snímky jednotlivých ryb s využitím přímé digitalizace na přístroji GIERTH RHF 200 (GIERTH X-Ray International GmbH, Německo). Na získaných rentgenových snímcích ryb byla provedena kontrola a detekce abnormalit (deformit) páteře. Počet a lokace deformovaných, dislokovaných a fúzovaných obratlů byl zaznamenán. Navíc byl určen poměr kraniokaudální délky a dorsoventrální výšky mezi jednotlivými obratli podle následujícího vzorce:

RCD = LDV / LCC, kde RCD je poměr mezi kraniokaudální délkou a dorsoventrální výškou. LDV je dorsoventrální výška obratle a LCC je kraniokaudální délka obratle. Kromě toho byla měřena i relativní velikost meziobratlového prostoru podle následujícího vzor

$$Rsin = 100 - (100 / LVC \times SLCC),$$

kde Rsin je relativní velikost meziobratlového prostoru. LVC je celková délka páteře a SLCC je suma kraniokaudálních délek jednotlivých obratlů. Vizuální kontrola každého obratle jedinců v ID skupině byla provedena pro získání dat o frekvenci výskytu deformovaných obratlů ve vztahu k lokaci obratle. Obratle, které vykazovaly kompresi, natažení či „K“ tvar namísto normálního „X“ tvaru byly považovány za deformované. Morfologie obratlů ze skupin CP byla považována za referenční. Celkový počet obratlů byl stanoven na základě rentgenových snímků.

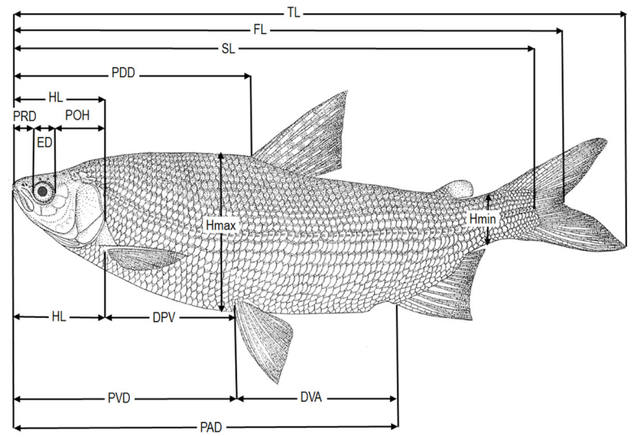
Všechny morfometrické charakteristiky byly měřeny na rentgenových snímcích s použitím softwaru MicroImage 4.0 (Olympus). Měřené ukazatele zahrnovaly délku hlavy (HL), predorsální vzdálenost (PDD), preventrální vzdálenost (PVD), preanální vzdálenost (PAD), vzdálenost mezi bázemi prsních a břišních ploutví (DPV), vzdálenost mezi bází břišní a řitní ploutve (DVA), maximální výšku těla (Hmax), minimální výšku těla (Hmin) a byly vyjádřeny v % standardní délky těla (SL). Další morfometrické znaky jako preorbitální vzdálenost (PRD), postorbitální délka hlavy (POH), průměr oka (ED), výška hlavy v týle (OCH) byly vyjádřeny v % délky hlavy (HL), (Obr. 1).

3. Výsledky a diskuze

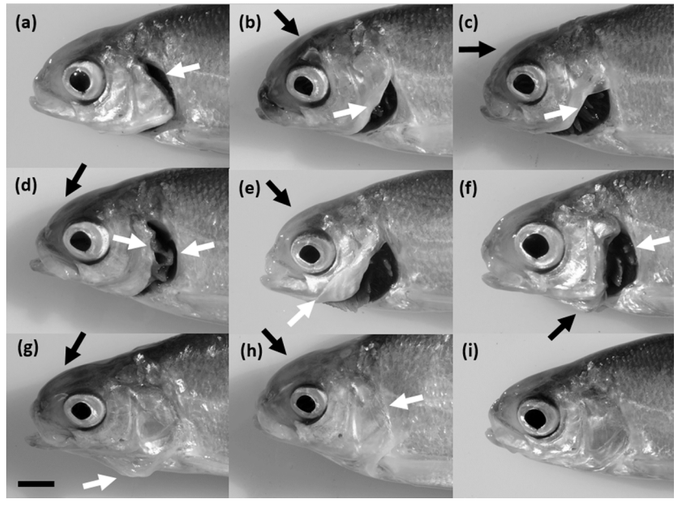
V populaci intenzivně chovaných síhů peledí byla pozorována frekvence výskytu deformit operkula na úrovni 10,9 ± 4,2 % (Obr. 2.). Frekvence výskytu deformit skřelového víčka výrazně závisela na druhu ryby a jejich frekvence výskytu dosáhla až 80 % (Koumoundouros a kol., 1997). V pracích zabývajících se komplexem deformit skřelového víčka jsou protichůdné názory k deficitu vitamínu C v potravě (Lim a Lovell, 1978; Soliman a kol., 1986). Dabrowski a kol. (1990) popisují, že geneze deformit

skřelového víčka silně koreluje s opožděnou kalcifikací kosterní soustavy. Názory na možnost dědičného přenosu komplexu těchto deformit se rovněž liší (Tave a Handwerker, 1994; Winemiller a Taylor, 1982).

Obr. 1. Morfometrické charakteristiky použité k porovnání skupin ryb chovaných různým způsobem. Každé měření odpovídá nejkratší vzdálenost mezi dvěma body.

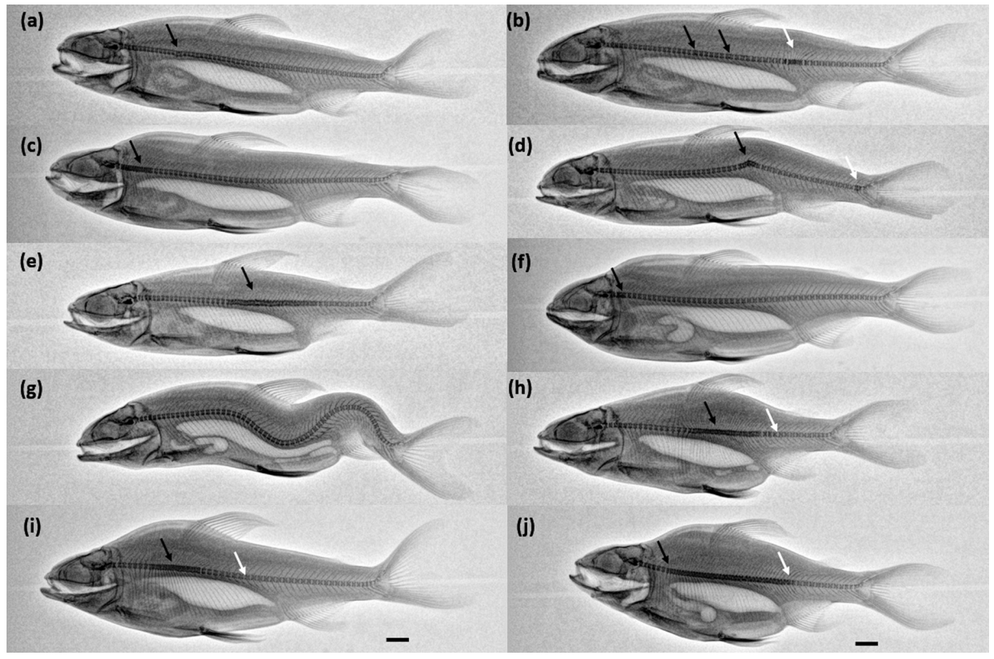


Obr. 2. Příklady nejčastěji pozorovaných typů deformit operkula u síha peledě Coregonus peled (Gmelin). (a) ztráta části skřelového víčka, podvíčka a branchiostegálních paprsků (bílá šipka), (b) ztráta větší části skřelového víčka (bílá šipka) branchiostegální paprsky chybí a frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (c) ztráta větší části skřelového podvíčka (bílá šipka) branchiostegální paprsky chybí a frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (d) žábra obnažená, ztráta skřelového víčka (bílá šipka) frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (e) skřelové víčko a branchiostegální paprsky laterálně vytočeny (bílá šipka) frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (f) ztráta velké části skřelového víčka a podvíčka (bílá šipka) část branchiostegálních paprsků chybí, (g) branchiostegální paprsky laterálně vytočeny (bílá šipka) frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (h) skřelové víčko zahojené (bílá šipka) frontální linie hlavy změněná (černá šipka), (i) detail normálně vyvinuté hlavy. Měřítko odpovídá 10 mm.



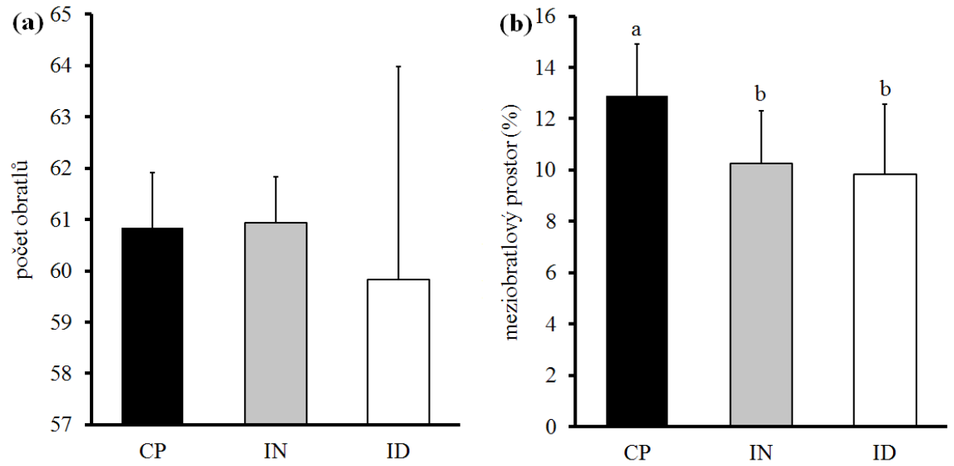
Frekvence deformit páteře u síha peledě byla zaznamenána na úrovni 5,2 ± 2,8 %. Příklady nejčastěji pozorovaných deformit páteře jsou uvedeny na Obr. č. 3. U jiných intenzivně chovaných ryb se frekvence výskytu deformit pohybuje v rozmezí 3,8–16,6 % u lososa obecného Salmo salar (Fraser a kol., 2015), 5-27 % u mořského cejna Sparus aurata (Andrades a kol., 1996) a 4,8-12,5 % u pstruha duhového Oncorhynchus mykiss (Madsen a Dalsgaard, 1999).

Obr. 3. Radiografické snímky nejčastěji nalezených deformit páteře u intenzivně chovaných síhů peledí. (a) ventrální dislokace obratlů (černá šipka) bez zjevné změny v tvaru těla, (b) fúze dvou (černé šipky) nebo více obratlů (bílá šipka) bez zjevné změny v tvaru těla, (c) fúze několika obratlů v R1 oblasti (černá šipka) jako příčina kyfózy v R2 oblasti, (d) fúze a dorsální dislokace několika obratlů v regionu R3 (černá šipka) jako příčina kyfózy v R3 kombinovaná s fúzí obratlů v R4 regionu (bílá šipka), masivní fúze velkého počtu obratlů v regionu R2 a R3 bez zjevné změn v tvaru těla, (f) fúze dvou obratlů R1 (černá šipka) mající za následek kyfóz v regionu R2,
(g) „cik-cak“ zakřivení páteře bez fúzí obratlů, (h) masivní fúze velkého počtu obratlů v regionech R2 a R3 (černá šipka) jejímž důsledkem je vysoký stupeň kyfóz v této oblasti a zvětšení meziobratlového prostor v regionu R3 (bílá šipka), (i) masivní fúze velkého počtu obratlů v regionu R2 (černé šipky) jejímž důsledkem je vysoký stupeň kyfózy ve stejné oblasti, (j) masivní fúze velkého počtu obratlů v regionech R1, R2 a R3, jejímž důsledkem je vysoký stupeň kyfózy v R2 a R3. Měřítko odpovídá 10 mm.

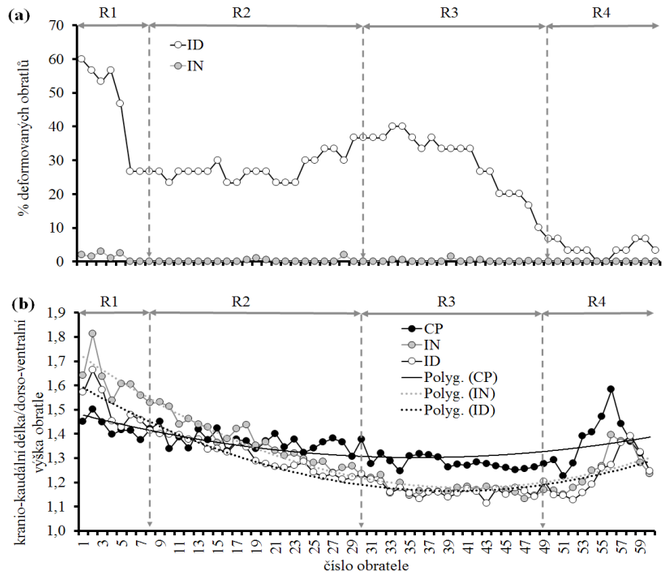


Fraser a kol. (2015) prokázali, že teplota během inkubace jiker ovlivňuje i průměrný počet obratlů u lososa obecného. Ryby měly vyšší počet obratlů při inkubační teplotě 6 °C v porovnání s rybami inkubovanými při 10 °C. V námi provedené studii se počet obratlů nelišil mezi porovnávanými skupinami ryb (Obr. 4). Tento vztah nebyl však jednoznačně prokázán na základě naší studie provedené u síha peledě. V této práci nebylo rovněž prokázáno, že by deformované ryby vykazovaly snížené růstové schopnosti tak, jako tomu bylo v případě studií u lososa (Fjelldal a kol., 2007) a mořském cejnu (Andrades a kol., 1996). V naší studii analýza radiografických snímků páteře prokázala rozdíly ve vzorci poměru mezi kraniokaudální délkou a dorsoventrální výškou jednotlivých obratlů (Obr. 5). Bylo prokázáno, že normálně vyvinuté i deformované intenzivně chované ryby se signifikantně lišily ve velikosti meziobratlového prostoru v porovnání s kontrolními rybami původem z rybničního prostředí (Obr. 5). Změny ve velikosti meziobratlového prostoru byly nalezeny i u intenzivně chovaných lososů obecných (Sullivan a kol., 2007).

Obr. 4. Porovnáni počtu obratlů (a) a relativní velikosti meziobratlového prostoru (b) u kontrolních rybničně odchovaných (černý sloupec), normálně vyvinutých intenzivně chovaných (šedý sloupec) a deformovaných intenzivně chovaných (bílý sloupec) ryb (n = 15–33).

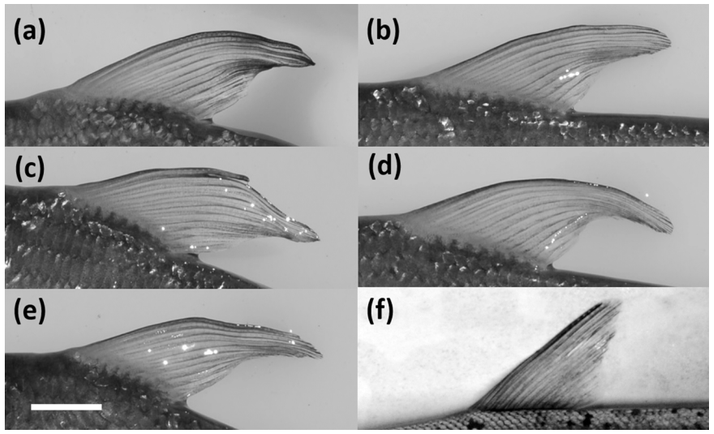


Obr. 5. Frekvence výskytu deformovaných obratlů v jednotlivých regionech páteře (a) u skupin normálně vyvinutých (IN) a deformovaných (ID) síhů peledí Coregonus peled. Změny v poměru mezi kraniokaudální délkou a dorsoventralní výškou u jednotlivých obratlů v rámci porovnávaných skupin kontrolních rybničně odchovaných (černý bod), normálně vyvinutých intenzivně chovaných (šedý bod) a deformovaných intenzivně chovaných (bílý bod) ryb (n = 15–33).

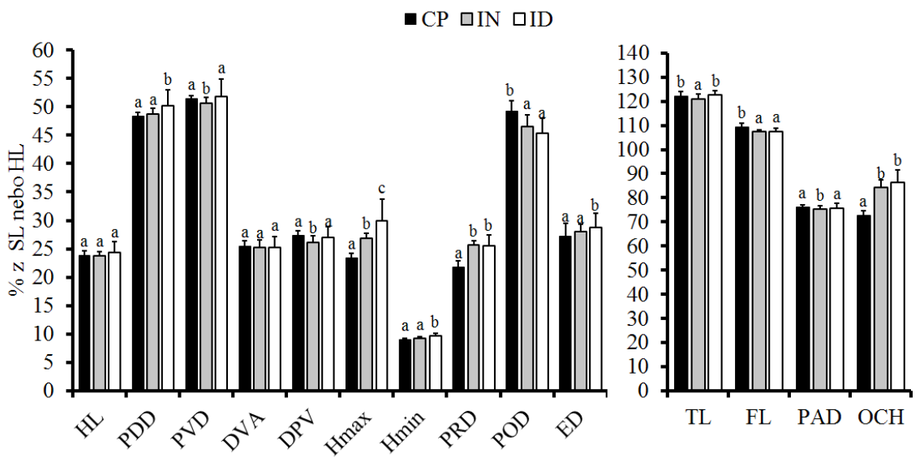


Práce provedené na lososu atlantském a mořčáku chutném (Dicentrarchus labrax) prokázaly, že zvýšený výskyt deformit skeletu může být zapříčiněn neadekvátní (vyšší) teplotou během inkubace jiker a v rané fázi odchovu ryb (Georgakopoulou a kol., 2007; Grini a kol., 2011; Fraser a kol., 2015). Přímá souvislost byla rovněž prokázána mezi příliš nízkou (< 6 °C) a příliš vysokou (> 14 °C) teplotou během inkubace jiker pstruha duhového. Optimální teplotou pro inkubaci pstruha duhového, z pohledu minimalizace deformit, byla teplota 10 °C. Během inkubace jiker síha peledě teplota kolísala mezi 4 – 10 °C. Později během raného odchovu byla postupně zvýšena na 14 °C. Žil'ukas a kol. (1983) inkubovali jikry síha peledě při 9 °C a následně odchovávali potomstvo při 10,5 – 13,5 °C bez výskytu deformit.

Obr. 6. Příklady změněné morfologie paprsků hřbetní ploutve (a-f). Měřítko odpovídá 10 mm.



Obr. 7. Morfometrické charakteristiky kontrolních (CP; černý sloupec), normálně vyvinutých (IN; šedý sloupec) a deformovaných (ID; bílý sloupec) síhů peledí Coregonus peled. Sloupce představují průměr a chybové úsečky směrodatnou odchylku (n = 33). Data jsou vyjádřena v % standartní délky těla (HL, PDD, PVD, PAD, DVA, DPV, Hmax, Hmin), nebo délky hlavy (PRD, POD, ED, OCH). Rozdílné indexy indikují statisticky významné rozdíly.



V rámci studie na síhu peledi byla vyšší frekvence deformovaných obratlů nalezena v regionu R1 (kraniální úsek) a v přední části regionu R3 (ocasní násadec) u deformovaných intenzivně chovaných ryb (Obr. 5). Naopak téměř neovlivněn byl region ocasní ploutve (R4).

Na zvýšené množství deformit v populaci chovaných ryb působí celá řada nutričních aspektů. U lososa obecného bylo prokázáno, že zvýšený obsah fosforu v krmivu (až 16 mg kg^{-1}) působí jako prevence nadměrného výskytu deformit páteře (Fjelldal a kol., 2016). Obsah fosforu v krmivech použitých při odchovu síha peledě kolísal od 12,0 do 17,7 mg kg^{-1}. Z pohledu prevence výskytu deformit se pro pstruha duhového doporučuje vyšší zastoupení vitamínu A v krmivu až na úrovni 200 000 UI kg^{-1}, přičemž v běžně používaných krmivech se obsah vitamínu A pohybuje do 20 000 UI kg^{-1}. V krmivech použitých při odchovu síha kolísal obsah vitamínu A od 15 000 do 17 500 UI kg^{-1}.

V prezentované studii byly rovněž pozorovány malformace ploutevních paprsků v hřbetní ploutvi (Obr. 6). Překvapivě ostatní ploutve nebyly zjevně poškozeny. Stejskal a kol. (2011) popisují poškození ploutví okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.) při odchovu v intenzivních podmínkách, kde docházelo k poškození většiny ploutví vyjma první hřbetní ploutve. Davidson a kol. (2011) popisují vyšší frekvenci výskytu deformit a jedinců s abnormálním plaváním při odchovu v recirkulačním systému s extrémně nízkou výměnou vody.

Morfometrická analýza intenzivně chovaných síhů peledí v porovnání s rybničně odchovanými odhalila signifikantní rozdíly v některých parametrech (Obr. 7). Rozdíly byly shledány především v predorsální a preventrální vzdálenosti, maximální a minimální výšce těla, preorbitální vzdálenosti, postorbitální délce hlavy a výšce hlavy v týle.

4. Závěr

Etologii a příčinu výskytu deformit u síha peledě nelze díky této studii jednoznačně určit. Lze pouze spekulovat o negativních vlivech vyšší (neadekvátní) teploty v raném odchovu. Výskyt deformit může reflektovat i deficit stopových prvků a vitamínů (Ca, P, vitamíny A a D). Pochopení nároků tohoto druhu na zastoupení jednotlivých složek krmiva je nezbytným krokem k zavedení efektivní technologie chovu. Předložená práce pouze dokumentuje několik aspektů výskytu deformit a poskytuje tak áklad pro identifikaci faktorů vedoucích k těmto negativním projevům. Příspěvek otevírá prostor pro zlepšení technologie i celkového image intenzivních chovů vzhledem ke zdraví a welfare ryb.

Poděkování

Výsledky byly získány za finanční podpory MŠMT projektu CENAKVA (CZ.1.05/2.1.00/01.0024), CENAKVA II (LO1205 v rámci programu NPU I program), projektu podporovaného MZE - NAZV (QJ1210013) a projektu Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích GAJU (060/2016/Z).

Literatura

Andrades, J.A., Becetra, J., Fernandez-Llebrez, P. (1996) Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture 141, 1-11.

Dabrowski K., Czensy S., Matusiewicz M. (2002) Coregonids. In: Webster C. D. & Lim

C. E. (eds) Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International, Wallingford, UK, pp. 230–244.

Dabrowski, K., El-Fiky, N., Koeck, G., Frigg, M., Wieser, W., (1990) Requirement and utilization of ascorbic acid and ascorbic sulfate in juvenile rainbow trout. Aquaculture **9** 1, 317-337.

Davidson J., Good C., Welsh C., Summerfelt S. T. (2011) Abnormal swimming behaviour and increased deformities in rainbow trout Oncorhynchus mykiss cultured in low exchange water recirculating aquaculture systems. Aquacultural Engineering **45**, 109–117.

Fjelldal, P.G., Hansen, TJ., Berg, A.E. (2007) A radiological study on the development of vertebral deformities in cultured Atlantic salmon (Salmo salar L.)

Fjelldal P.G., Hansen T., Lock E.-J., Wargelius A., Fraser T. W. K., Sambraus F., El-Mowafi A., Albrektsen S., Waagbø R.,Ørnsrud R. (2016) Increased dietary phosphorus prevents vertebral deformities in triploid Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture Nutrition **22**, 72–90

Fraser T. W. K., Hansen T., Fleming M. S., Fjelldal P. G. (2015) The prevalence of vertebral deformities is increased with higher egg incubation temperatures and triploidy in Atlantic salmon Salmo salar L. Journal of Fish Diseases **38**, 75–89.

Georgakopoulou E., Angelopoulou A., Kaspiris P., Divanach P., Koumoundouros G. (2007) Temperature effects on cranial deformities in European sea bass, Dicentrarchus labrax (L.) Journal of Applied Ichthyology **23**, 99–103.

Grini A., Hansen T., Berg A., Wargelius A., Fjelldal P. G. (2011) The effect of water temperature on vertebral deformities and vaccine-induced abdominal lesions in Atlantic salmon, Salmo salar L. Journal of Fish Diseases **34**, 531–546.

Koumoundouros G., Oran G., Divanach P., Stefanakis S., Kentouri M. (1997) The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (Sparus aurata L.) larviculture. Moment of apparition and description. Aquaculture **156**, 165-177.

Lim, C., Lovell, R.T. (1978) Pathology of the vitamin C syndromes in channel catfish (Ictalurus punctatus). Journal of Nutrition **108**, 1137-l 146.

Madsen L. & Dalsgaard I. (1999) Vertebral column deformities in farmed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture **171**, 41–48.

Matoušek J., Stejskal V., Prokesova M., Kouril J. (2016) The effect of water temperature on growth parameters of intensively reared juvenile peled Coregonus peled. Aquaculture Research doi:10.1111/are.13025

Soliman, A.K., Jauncey, K., Roberts, R.H. (1986) The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (Oreochmmis niloticus). Aquaculture 52, 1-10.

Stejskal, V., Policar, T., Křišťan, J., Kouril, J., Hamackova, J., (2011) Fin condition in intensively cultured Eurasian perch (Perca fluviatilis L.). Folia Zoologica **60**, 122-128.

Sullivan, M., Hammond, G., Roberts, J.R., Manchester, N.J. (2007) Spinal deformation in commercially cultured Atlantic salmon, Salmo salar L.: a clinical and radiological study. Journal of Fish Diseases **30**, 745–752.

Švinger V.W. a Kouril J. (2014) Synchronization of ovulation in cultured northern whitefish (Coregonus peled, Gmelin 1788) using [D-Arg 6 Pro 9 Net]-sGnRH analogue and its effect on egg quality. Aquaculture Research **45**, 834–847.

Tave, D., Handwerker, T.S. (1994) Semi-operculum: A non-heritable birth defect in Tilapia nilotica. Journal of World Aquaculture Society **25**, 333-336.

Winemiller, K.O., Taylor, D.H. (1982) Inbreeding depression in the convict cichlid, Cichlasoma nigrofasciaturn (Baird and Girard). Journal of Fish Biology **21**, 399-402.

Wunderlich K., Szepkowska B., Szcepkowski M., Kozłowski M., Piotrowska I. (2011) Impact of daily feed rations for juvenile common whitefish (Coregonus lavaretus L.), on rearing indicators and oxygen requirements. Archives of Polish Fisheries **19**, 23–30.

Žil'ukas V.Ju., Penaz M., Prokes M. (1983) The posthatching steps in the early ontogeny of Coregonus peled. Folia Zoologica **32**, 85-93.

Název publikace: „Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péčí v recirkulačních systémech“ - sborník příspěvků

Editoři. prof. Dr. Ing. Jan Mareš
Ing. Štěpán Lang, Ph.D.
Bc. Martina G. Marešová

Za jazykovou a odbornou úroveň příspěvků zodpovídají jednotliví autoři.

Počet stran: 104
Počet výtisků: 120
Rok vydání: 2016

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně,
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství
rybarstvi.eu
Zemědělská 1, 613 00 Brno

ISBN 978-80-7509-441-4

Sborník byl vydán za finanční podpory projektu NAZV QJ1210013 „Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče“ a QJ1510077 Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace“.