



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

TECHNICKÁ ZPRÁVA PROJEKTU

Název projektu:

**Provozní ověření využití ozónu
v intenzivním chovu ryb.**

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/15_001/0000044



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

Příjemce:

Obchodní firma nebo název: FISH Farm Bohemia s.r.o.

Adresa: Rokytno 202, 533 04 Rokytno okr. Pardubice

IČ: 28814215

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/15_001/0000044

Název projektu: Provozní ověření využití ozónu v intenzivním chovu ryb.

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

Martin Junek

Vědecký subjekt:

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

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 30.6.2017

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

doc. Tomáš Machula, Ph.D., Th.D.

Zpracovatel technické zprávy projektu:

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

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 30.6.2017

Jména a příjmení osob, které zpracovaly technickou zprávu:

doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

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

doc. Tomáš Machula, Ph.D., Th.D.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

Souhlas s publikací technické zprávy:

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

Podpis osoby oprávněné zastupovat:

1. Příjemce dotace:

Martin Junek

2. Partnera projektu (vědecký subjekt):

doc. Tomáš Machula, Ph.D., Th.D.

3. Zpracovatele technické zprávy:

doc. Tomáš Machula, Ph.D., Th.D.

+



Obsah

| | |
|--|----|
| 1 Cíl..... | 5 |
| 1.1 Co je cílem projektu..... | 5 |
| 1.2 V čem spočívá inovativnost technologie | 5 |
| 1.3 Proč je nutná inovace, která je předmětem projektu | 5 |
| 2 Úvod..... | 7 |
| 3 Materiál a metodika..... | 9 |
| 3.1 Příprava odchovných RAS systémů, odchov a příprava experimentálních ryb využívaných k řešení projektu | 9 |
| 3.2 Zahájení experimentu sledující vliv ozonizace vody na zoohygienu prostředí, efektivitu odchovu a stav odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého | 11 |
| 3.3 Průběh vlastního experimentu | 12 |
| 3.4 Sledované parametry v průběhu testování ozonizace vody v RAS při odchovu ryb candáta obecného a sumce velkého..... | 13 |
| 3.5 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení..... | 19 |
| 4 Výsledky | 20 |
| 4.1 Průběh kusové průměrné hmotnosti těla a celkové délky u candáta obecného odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody..... | 20 |
| 4.2 Průběh kusové průměrné hmotnosti těla a celkové délky u sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody..... | 22 |
| 4.3 Fultonův koeficient u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody na konci 231 denního experimentálního odchovu | 24 |
| 4.4 Specifická rychlost růstu po celém experimentálním odchovu trvajícím 231 dní | 25 |
| 4.5 Konverze živin u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody na konci 231 denního experimentálního odchovu | 26 |
| 4.6 Kumulativní přežití odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody v průběhu a na konci 231 denního experimentálního odchovu | 26 |
| 4.7 Fyzikálně-chemická kvalita vody | 28 |
| 4.8 Posouzení stavu a poškození ploutví..... | 29 |
| 4.9 Výsledky senzorní analýzy svaloviny odchovaných candátů obecných a sumců velkých na konci 231 denního experimentálního odchovu | 32 |
| 4.10 Stanovení a vyhodnocení SSI, HSI a VSI..... | 33 |
| 4.11 Výsledky makroskopického vyšetřování v rámci sledování zdravotního stavu a welfare ryb | 34 |
| 4.12 Výsledky parazitologického vyšetření | 36 |
| 4.13 Suspektní bakteriologické vyšetření..... | 37 |
| 4.14 Histologické vyšetření žaber odchovávaných ryb..... | 38 |
| 4.15 Stanovení biochemického profilu krve odchovávaných candátů obecných a sumců velkých | 40 |
| 4.15 Stanovení úrovně oxidativního stresu..... | 41 |
| 4.16 Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb, vody a biologických filtrů..... | 45 |
| 5 Závěr..... | 48 |



1 Cíl

1.1 Co je cílem projektu

Předkládaný projekt měl za cíl otestovat a zavést do české rybářské praxe ozonizaci vody v chovu candáta obecného (*Sander lucioperca*) a sumce velkého (*Silurus glanis*) v kontrolovaných intenzivních podmínkách chovu využívající RAS (recirkulační akvakulturní systém) technologii. V průběhu projektu byl hodnocen růst (v podobě SGR-specifická rychlost růstu, celková délka - TL, hmotnost - W), přežití, konverze živin (v podobě FCR), kondice (v podobě FC-Fultonův koeficient) a zdravotní stav odchovávaných ryb a kvalita vody během odchovu candáta obecného a sumce velkého. V závěru testu byly vyhodnoceny senzorké vlastnosti vyprodukovaných ryb v závislosti na použitém odchovném systému a využití ozonizace vody. Výsledky projektu v budoucnosti mohou rybářské praxi posloužit k snadnější orientaci týkající se využití ozonizace vody při intenzivním chovu ryb, konkrétně sumce velkého a candáta obecného.

1.2 V čem spočívá inovativnost technologie

Projekt byl zaměřen na inovaci intenzivního chovu candáta obecného a sumce velkého pomocí využití ozonizace, která měla zajistit vyšší kvalitu vody a celou zoohygienu chovu zmíněných druhů ryb v rámci použitých recirkulačních akvakulturních systémů. Řešení projektu navázalo především na pět již vyřešených pilotních projektů (CZ.1.25/3.1.00/13.00499 Optimalizace výživy juvenilních a starších kategorií candáta obecného trvale chovaného v RAS; CZ.1.25/3.1.00/13.00466 Optimalizace a zavedení mimosezónního výtěru u candáta obecného v rámci jeho intenzivního chovu; CZ.1.25/3.4.00/10.00318 Ověření technologie produkce tržního candáta obecného v podmínkách recirkulačního systému; CZ.1.25/3.4.00/09.00534 Ověření technologie chovu násadového materiálu a tržního candáta obecného *Sander lucioperca* v intenzivních podmínkách chovu a CZ.1.25/3.4.00/09.00533 Intenzivní chov ročka candáta obecného *Sander lucioperca*), které identifikovaly četné problémy spojené s udržením kvality vody a se zoohygienu intenzivního chovu juvenilních ryb candáta obecného. Sumec velký byl použit při řešení projektu jako referenční a běžně v intenzivním chovu využívaný druh. Projekt se týkal inovace progresivní technologie chovu ryb, která je šetrná k životnímu prostředí a která se vyznačuje vysokou produktivitou a současně zajišťuje kontinuální produkci kvalitních násadových a tržních ryb obou druhů v průběhu celého roku. Projekt vytváří nový proces intenzivní a kontinuální produkce zmíněných druhů ryb a současně dochází k vytvoření nových produktů v podobě násadových a tržních ryb daných druhů ryb v průběhu celého roku.

1.3 Proč je nutná inovace, která je předmětem projektu

V současné době je české produkční rybářství úzce zaměřeno a specializováno na produkci tržního kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v rámci rybničního extenzivního nebo polointenzivního chovu. Roční produkce cca 18 – 20 000 tun tržního kapra představuje 95% celé produkce ryb v českém rybářství (Adámek a kol., 2012). Produkce tržních kaprů se vyznačuje vysokým stupněm sezónnosti, kdy většina ryb je vyprodukována v krátkém období na podzim či na jaře. Takováto jednostranná a sezónní produkce tržních ryb může být v budoucnosti pro české rybářství velkým produkčním problémem, který může významně



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

snižovat uplatnitelnost tržního kapra na evropském rybím trhu. Už dnes můžeme sledovat měnící se trendy evropského trhu s rybami, kde je v současnosti stále více poptávána kontinuální produkce cenných druhů ryb (především dravé druhy ryb s bílým masem bez drobných kostí a nižším obsahem tuku; Policar a kol., 2009; 2011).

Z tohoto důvodu je důležité více diverzifikovat produkci českého rybářství a zavádět do produkčních rybářských podniků intenzivní a kontrolované chovy nových perspektivních druhů ryb, kterými například jsou: candát obecný (*S. lucioperca* L.; Policar a kol., 2011; 2013) nebo sumec velký (*S. glanis* L.; Mareš a kol., 2005). České rybářství potřebuje technologický vývoj, který napomůže produkčním podnikům využít k chovu nové chovatelské technologie (např.: recirkulační akvakulturní systémy - RAS). Tyto technologie po četných inovacích mohou dosáhnout rentabilního, efektivního a kontinuálního chovu a produkce zmíněných druhů ryb. V českém rybářství do současné doby nebyla využita možnost poloprovozně testovat optimalizaci chovných podmínek v rámci RAS za využití periodické ozonizace vody. Ze zmíněných důvodů mohou výsledky tohoto projektu v České republice významně přispět k inovaci a rozvoji intenzivního chovu ryb a diverzifikaci produkce násadových či tržních ryb.

Doposud nebyla ozonizace vody v chovu ryb v českém rybářství využívána. Testování této inovace může přispět k zvyšování konkurenceschopnosti české akvakultury a k zvýšení efektivity využití různých produkčních zdrojů.



2 Úvod

Současné české produkční rybářství můžeme charakterizovat jako jednostranně zaměřené především na rybníční chov kapra obecného (Adámek a kol., 2012). Česká republika ročně produkuje kolem 18 – 20 000 tun tržního kapra, což představuje 95% celé produkce ryb v ČR (Adámek a kol., 2012). Je zřejmé, že takováto jednostranná produkce ryb může být v budoucnosti pro české rybářství výrazným produkčním problémem v případě, že současní jak tuzemští, tak i zahraniční zákazníci změni svůj zájem konzumovat tržního kapra (Policar a kol., 2013; 2014). Z tohoto důvodu je důležité více druhově a časově diverzifikovat produkci českého rybářství (Regenda, 2014). Pro další rozvoj českého rybářství je velmi důležité zavádět do praxe produkčních rybářských podniků intenzivní průmyslové chovy zajišťující vyrovnanou a kvalitní celoroční produkci perspektivních druhů ryb, kterými jsou například: candát obecný (*S. lucioperca*) a sumec velký (*S. glanis*) (Mareš a kol., 2005; Policar a kol., 2013; 2014).

Intenzivní chovy zmíněných druhů ryb jsou z hlediska ekonomické efektivity a rentability produkce násadového materiálu či tržních ryb velmi zajímavé (Schram, 2008). Vyznačují se vysokou intenzifikací práce, vysokým růstem ryb, vysokou konverzí předkládaných krmiv, krátkým produkčním intervalem, produkcí ryb při vysokých hustotách na poměrně malém odchovném prostoru, dosažením kontinuální kvalitní produkce ryb, nenáročností chovu na velkém množství přítokové vody atd. (Kestemont a Mélard, 2000; Schram, 2008). Je pravdou, že zmíněné chovy jsou také zatíženy určitými produkčními problémy, které jsou spojené především s nevhodnou zoohygienu chovu, zavlečením parazitů do chovu, zvýšeným výskytem bakteriálních onemocnění v chovu, což přináší zvýšenou mortalitu ryb (Navrátil a kol., 2000; Sudová a kol., 2010). Zvýšené úhyny odchovávaných ryb způsobují významné produkční ztráty, sníženou produkci ryb a rentabilitu chovu (Schram, 2008).

Současnými hlavními problémy v intenzivním chovu násadových či tržních ryb sumce jsou: 1) zavlečení ektoparazitů (především kožovce rybiho - *Ichthyophthirius multifiliis*) do chovu a 2) zvýšená agresivita odchovávaných ryb, která se v chovu projevuje při zhoršujících se zoohygienických podmínkách v odchovných nádržích (Kolářová a Svobodová, 2009). U intenzivního chovu candáta dochází k častému zavlečení ektoparazitů do chovu, zvýšenému obsahu organických rozpuštěných látek ve vodě, vyšším koncentracím bakterií ve vodě a obecně ke zhoršené kvalitě vody (Kestemont a kol., 2000; 2003; Wang a kol., 2009). Všechny zmíněné problémy u obou druhů ryb způsobují zvýšenou mortalitu ryb zapříčiněnou parazitárními či bakteriálními chorobami, poraněním těla odchovávaných ryb, sekundárním zaplísněním ryb či jejich zvýšeným stresem (Sudová a kol., 2010). Tím dochází u intenzivních chovů daných druhů ryb k jejich úhynům, k nemalým ztrátám a k snížené produkci ryb a k zhoršené ekonomice chovu (Schram, 2008; Policar a kol., 2014; Sudová a kol., 2010).

Použitá literatura:

- Adámek, Z., Linhart, O., Kratochvíl, M., Flajšhans M., Randák T., Policar T., Masojídek J., Kozák, P., 2012. Aquaculture in the Czech Republic in 2012. Modern European prosperous sector based on thousand-year history of pond culture. *Aquaculture Europe* 37, 5–14.
- Kestemont, P., Mélard, C., 2000. Aquaculture (Chapter 11). In: Craig J.F. (Ed.), *Percid Fish – Systematics, Ecology and Exploitation*. Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 191–224.
- Kestemont, P., Jourdan S., Houbart, M., Mélard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuvier, A., Kentouri, M., Baras, E., 2003. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture* 227, 333–356.



- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Edice Metodik, VÚRH Vodňany, č. 88, s. 8-15.
- Mareš, J., Wognárová, S., Jirásek, J., 2005. Odchov plůdku sumce velkého. Bulletin VURH Vodňany, (41) č. 3 107–113.
- Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU, Brno, 155 s
- Polícar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S.M.H., Kouřil, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany 89, 51 s.
- Polícar, T., Bláha, M., Kříšťan, J., Stejskal, V., 2011. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany, 110, 46 s.
- Polícar, T., Stejskal, V., Kříšťan, J., Bossuyt, J., Bláha, M., 2013. The effect of fish size and density on the weaning success in pond-cultured pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquaculture International* 21: (4), 869 – 882
- Polícar, T., Kříšťan, J., Blecha, M., Vaniš, J., 2014. Adaptace a chov juvenilních ryb candáta obecného (*Sander lucioperca* L.) v recirkulačním akvakulturním systému (RAS). Edice Metodik, FROV JU Vodňany, č. 141, s.8–35.
- Regenda, J., 2014. Chov doplňkových (vedlejších) druhů ryb. V: Hartman, P., Regenda, J. (Eds), *Praktika v rybníkářství*, FROV JU: 181 – 356.
- Schram, E., 2008. Production costs of perch and pikeperch juveniles. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (eds.), *Proceeding of Percid Fish Culture From Research to Production*, Universitaires de Namur, 75–79.
- Sudová, E., Straus, D.L., Wienke, A., Meinelt, T., 2010. Evaluation of continuous 4-day exposure to peracetic acid as a treatment for *Ichthyophthirius multifiliis*. *Diseases of aquatic organisms* 86 (1): 51-56.
- Wang, N., Xuliang, X., Kestemont, P., 2009. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture* 289: 70–73.



3 Materiál a metodika

V průběhu řešení tohoto projektu č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/15_001/0000044 „Provozní ověření využití ozónu v intenzivním chovu ryb“ byly v období od 15.6.2016 do 30.6.2017 celkem realizovány tři poloprovozní experimentální aktivity (příprava odchovných RAS systémů k realizaci projektu, odchov a příprava experimentálních ryb a následně realizace dvou odchovných období s kontinuálním a periodickým využitím či bez použití ošetření vody ozónem) s cílem optimalizovat a zefektivnit intenzivní chov candáta obecného a sumce velkého využívající RAS.

3.1 Příprava odchovných RAS systémů, odchov a příprava experimentálních ryb využívaných k řešení projektu

První aktivita projektu se týkala přípravy a zprovoznění jednotlivých identických RAS systémů, které následně byly využívány v průběhu celého projektu. V průběhu června 2016 byly na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích, Fakultě rybářství a ochrany vod (FROV JU) a především na FISH Farm Bohemia s.r.o. (FFB) zprovozněny celkem 4 identické RAS systémy, které byly tvořeny 9 odchovnými nádržemi (o objemu vody 1500 litrů), mechanickým bubnovým filtrem o minimálním průtoku vody 15 000 litrů za hodinu, biologickým filtrem s pohyblivým ložem a filtračním médiem o objemu vody 15 000 litrů, ohřevem vody, směšovačem kyslíku a přítokovým a odtokovým potrubím. Dva zprovozněné systémy, vždy jeden na FROV JU a jeden na FFB, byly vybaveny generátorem ozónu (model OT 10, který produkuje ozón ze vzduchu bez prachu a oleje s maximálním výkonem 10 g ozónu za 1 hodinu při průtoku vzduchu 4-10 litrů za minutu) od firmy OZONTECH s.r.o. Zlín-Štípa. Ozón z generátoru byl pod tlakem (max – 40 kPa) při maximální pracovní teplotě 40°C a relativní vlhkosti vzduchu (80%) přiváděn přes regulační ventil, barometr a zpětný ventil do injektoru, kterým protékala pomocí čerpadla voda z biologických filtrů a kde docházelo k jejímu ošetření ozónem. Následně takto ozonizovaná voda protékala pískovým filtrem, který byl naplněn aktivním uhlím. Tohoto filtru se v daném RAS systému využívalo k odbourávání zbytkového ozónu, čímž se zabránilo k jeho vniknutí dále do systému potažmo do odchovných nádrží. Vyšší koncentrace zbytkového ozónu v odchovných nádržích by mohla totiž způsobit neočekávané masové úhyny ryb či jejich jiné fyziologické poškození. Příprava a zprovoznění jednotlivých RAS v období od 15.6. do 29.6. 2016 zahrnovala vyčištění, dezinfekci a údržbu jednotlivých technologických prvků RAS a následné napuštění a rozběh systémů zahrnující také počáteční naběhnutí biologických filtrů. V průběhu této fáze projektu došlo také k odstranění různých netěsností v daných systémech či technických nedostatků, sestavení jednotlivých metodických postupů daného projektu a opětovnému zaškolení obsluhy, která realizovala chovatelskou část týkající se řešení tohoto projektu.

obou zmíněných pracovištích nasazeno 24 000 kusů juvenilních ryb candáta obecného, které byly získané z rybníčního chovu ($TL = 45,5 \pm 5,5$ mm a $W = 0,6 \pm 0,12$ g). Průměrně bylo nasazeno do každé nádrže 3000 ks candáta obecného před jeho adaptací na peletované krmivo. Takto získané ryby byly postupně v průběhu 10 dní adaptovány na suchou peletovanou směs od firmy Biomar (Inicio Plus 0,8 a 1,1 mm) a následně odchovávány do kusové hmotnosti 9,1 – 9,2 gramů po dobu 55 dní (do 5.9.2016) podle Policar a kol. (2014).



Následně byly ryby nasazeny a použity k experimentálnímu ověření vlivu ozonizace vody na efektivitu odchovu juvenilních ryb candáta obecného a sumce velkého.

Dne 12.7.2016 bylo do dvou nádrží každého systému na obou zmíněných pracovištích nasazeno 6000 kusů juvenilních ryb sumce velkého (TL = 50 mm a W= 0,9 g), které již byly adaptované na umělé peletované krmivo Biomar Inicio 1,1 mm. Průměrně bylo nasazeno 750 ks sumce velkého do každé nádrže. Tyto ryby byly v daných nádržích následně odchovávány po dobu 55 dní do zahájení vlastního experimentu daného projektu (5.9.2016). Následně byly ryby nasazeny a použity k experimentálnímu ověření vlivu ozonizace vody na efektivitu odchovu juvenilních ryb candáta obecného a sumce velkého.

Po nasazení ryb do nádrží byly ryby krmeny ručně v dávce *ad libitum* (dle chuti) krmivem Inicio Plus či Inicio o velikosti pelet 0,8; 1,1; 1,5 mm od firmy Biomar v pravidelných půlhodinových intervalech v průběhu celé světlé části dne od 7:00 do 19:00 hodin vždy 30 minut po začátku rozsvícení odchovny a 30 minut před zhasnutím odchovny. I když bylo krmivo podáváno v dávce *ad libitum*, bylo všechno předkládané krmivo rybám pečlivě navažováno a evidováno za účelem výpočtu krmného koeficientu (FCR = **Feed Conversion Ratio, tzv. koeficient konverze krmiva**), který byl na konci jednotlivých období (adaptace i dalších odchovných období) vypočítán podle následujícího vzorce:

Koeficient konverze krmiva (FCR v g.g⁻¹) = CKD / (KB – PB) - kde CKD je celková krmná dávka za jednotlivé období (g), tzn. množství předloženého krmiva, KB je konečná celková biomasa ryb v nádrži (g) a PB je počáteční biomasa ryb v nádrži (g). Využitá hodnota CKD zahrnovala v rámci výpočtu FCR i množství předloženého krmiva, které nebylo rybami stoprocentně využito. V poloprovozních podmínkách nebylo možné zjistit a oddělit množství nevyužitého krmiva, a tak bylo s ním kalkulováno při stanovení hodnoty FCR.

Dalšími zjišťovanými produkčními ukazateli v průběhu tohoto období byly následující parametry, které byly vypočítány podle uvedených vzorců publikovaných Policarem a kol. (2011; 2013):

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

Specifická rychlost růstu (SGR v %.d⁻¹) = ln(Wk) – ln(Wp) / t *100- kde t je počet dní v daném období, Wp je průměrná hmotnost nasazovaných ryb a Wk je konečná průměrná hmotnost slovených ryb na konci období.

Pro uvedené produkční ukazatele bylo na začátku i na konci odchovného období nutné zjistit počáteční (W₁) a konečnou (W₂) průměrnou hmotnost a celkovou délku (TL₁ a TL₂) nasazených a odchovaných ryb. Z každé nádrže v rámci produkce experimentálních ryb byl odebrán, změřen a zvážen na začátku a potažmo na konci odchovného období kontrolní vzorek patnácti ryb. Z měření a vážení ryb byla zjištěna průměrná hodnota celkové délky a hmotnosti odchovávaných ryb v jednotlivých skupinách (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón-). Při měření a vážení ryb bylo použito anestetikum hřebíčkový olej v dávce 0,33 ml na 10 litrů vody. Ke kontrolnímu měření celkové délky ryb bylo použito klasického měřidla využívaného k biometrickému měření ryb. Celková délka ryb byla měřena s přesností na 1 mm.



Ke kontrolnímu vážení hmotnosti odchovávaných ryb bylo využito digitálních vah Mettler AE 200) od firmy Mettler Toledo s.r.o. (Česká republika) s přesností vážení na 0,01 g.

V každé nádrži byly dvakrát denně (v 7:00 a 15:00 hodin) odlovovány uhynulé kusy ryb, které byly následně z jednotlivých nádrží hromadně váženy, počítány a evidovány s cílem zjistit parametr PUR (počet uhynulých ryb v období). Po odstranění uhynulých ryb, byly jednotlivé nádrže odkaleny od výkalů a zbytků krmiv a v tří denních intervalech očištěny i boční stěny odchovných nádrží od nárostů vyskytujících se v RAS.

Zjištěné jednotlivé produkční ukazatele z odchovných nádrží na obou pracovištích sloužily k výpočtu průměrné hodnoty daného ukazatele a následně jsou sumarizovány v kapitole 4 této zprávy.

3.2 Zahájení experimentu sledující vliv ozonizace vody na zoohygienu prostředí, efektivitu odchovu a stav odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého

K danému experimentu byly využity vždy dva identické odchovné RAS systémy na pracovišti FROV JU a FFB (popsané v kapitole 3.1 této zprávy). V prvním systému byly ve čtyřech nádržích (objem vody 1500 litrů) odchovávané ryby candáta obecného a ve čtyřech nádržích ryby sumce velkého s ošetřením vody ozónem pomocí výrobce ozónu popsaného v kapitole 3.1 této zprávy (experimentální skupina = ryby s ozonizací, candát ozón + a sumec ozón +) a v druhém systému, při jeho stejném zatížení a využití stejných velikostí a druhů ryb, nebyla použita ozonizace (kontrolní skupina = ryby bez ozonizace, skupina candát ozón - a sumec ozón -). Do každé nádrže bylo na začátku experimentu nasazeno 500 ks candáta obecného (TL = 102,5 – 103,2 mm a W = 9,1 – 9,2 g; viz Tab 1). Celkem bylo k experimentu na obou pracovištích použito dohromady 8000 ks experimentálních ryb candáta obecného. Na začátku experimentu bylo do každé nádrže nasazeno 200 kusů experimentálních ryb sumce velkého (TL = 137,0 – 138,8 mm a W = 20,2 – 21,1 g; viz Tab 1). Celkem k experimentu na obou pracovištích dohromady bylo použito 3200 ks experimentálních ryb sumce velkého.

Tab. 1: Průměrné biometrické parametry nasazovaných skupin candátů obecných a sumců velkých na začátku experimentu.

| Druh ryby | Ryby s ozonizací | | | Ryby bez ozonizace | | |
|-----------|------------------|--------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|
| | W (g) | TL (mm) | SL (mm) | W (g) | TL (mm) | SL (mm) |
| candát | 9,2 ± 2 | 102,5 ± 8,1 | 89,1 ± 7,1 | 9,1 ± 2 | 103,2 ± 8,2 | 88,9 ± 7,3 |
| sumec | 21,1 ± 6,3 | 138,8 ± 13,5 | 127,9 ± 12,9 | 20,2 ± 6 | 137,0 ± 13,4 | 125,8 ± 12,7 |

Legenda: W – průměrná kusová hmotnost; TL – průměrná kusová celková délka, SL – průměrná kusová standartní délka těla

V rámci experimentální skupiny (skupina ryb s ozonizací, candát ozón + a sumec ozón +) byla část vody odtékající z biologického filtru v prvním období experimentu (období od 1. do 105. dne odchovu) kontinuálně po dobu 24 hodin denně ošetřena ozónem v dávce 2,5 gramu za hodinu. To znamená, že zmíněný systém byl za celý den ošetřen 60 gramy vyrobeného ozónu. V druhém období byla využita jen periodická ozonizace vody, kdy výrobce ozónu, který vyráběl zvýšenou produkci ozónu (10 gramů ozónu za hodinu), byl každý den spuštěn v 7:00 a vypnut v 13:00, což představuje 6 hodin provozu a tedy ošetření systému 60 gramy ozónu za



den. Cílem projektu a tohoto designu experimentu bylo posoudit vliv kontinuální a periodické ozonizace vody v RAS systému na následující parametry: přežití odchovávaných ryb, kvalitu vody včetně zákalu vody, oxidačně redukčního potenciálu vody, prevalence parazitárního a bakteriálního onemocnění ryb, bakteriální kontaminace vody a osidlování filtračních elementů biologických filtrů a stupně poškození jater. Naopak některé sledované parametry, jako jsou: specifická rychlost růstu (SGR), koeficient konverze krmiva (FCR), Fultonův koeficient (FK), stav a poškození ploutví, fyziologický stav ryb zahrnující hmotnostní podíl sleziny, jater a tělního tuku, senzorické hodnocení svaloviny odchovaných ryb, histologické vyšetření žaber, biochemický profil krve ryb a oxidační stres byly hodnoceny pouze na konci nebo na začátku a konci celého experimentu, jelikož se předpokládalo, že kontinuální či periodická ozonizace vody nebude mít významný vliv na dané sledované parametry, které jsou především ovlivněny věkem a výživou ryb, či chronickým působením ozonizace vody. Veškeré výsledky tohoto projektu a realizovaného experimentu jsou ve zprávě prezentovány jako průměrné hodnoty z odchovu obou druhů a obou testovaných skupin z obou pracovišť s cílem potlačit vliv pracoviště na jednotlivé sledované parametry.

3.3 Průběh vlastního experimentu

Vlastní experiment sledující vliv ozonizace vody v RAS na zoohygienu prostředí, efektivitu odchovu a stav odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého trval celkem 231 dní a odchov byl rozdělen na celkem 9 dílčích obdobích po 21 dnech, kdy na konci každého dílčího období byly sledovány následující parametry: hmotnost a celková délka ryb, kvalita vody, zdravotní stav ryb a stupeň poškození jater. Daný experiment byl také současně rozdělen na dvě periody (první do 105. dne a druhá do 231. dne) vyhodnocující vliv kontinuální a periodické ozonizace vody především na přežití a zdravotní stav odchovávaných ryb a kvalitu vody. V průběhu experimentu byly realizovány následující chovatelské úkony:

Denně byla v jednotlivých odchovných nádržích dvakrát (v 7:00 a 15:00 hodin) měřena koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě a teplota vody pomocí Oximetru 3205 od firmy WTW s.r.o. (Česká republika) průběhu celého odchovu s cílem udržet tyto hodnoty v optimálních a požadovaných hodnotách (100 % nasycení kyslíkem a teplota vody kolem 21 – 23°C). Se stejnou frekvencí byl také v každé nádrži měřen oxidačně redukční potenciál vody (ORP) pomocí kapesního pH metru 3110 od firmy WTW s.r.o. (Česká republika) s ORP elektrodou. S cílem zjistit vliv ozonizace vody na výskyt oxidační či redukčních látek ve vodě charakterizující vyšší či nižší hodnoty ORP.

Ostatní parametry vody jako je: pH, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- byly měřeny jedenkrát denně ve směsném vzorku z každé experimentální skupiny ryb stacionárním pH metrem od firmy WTW s.r.o. (Česká republika) a absorpční spektrofotometrií v chemické laboratoři FROV JU s cílem také udržet kvalitu vody ve všech nádržích na optimálních hodnotách (pH 6,5 – 7; $\text{NH}_4^+ < 0,5 \text{ mg.l}^{-1}$, $\text{NO}_2^- < 0,5 \text{ mg.l}^{-1}$, $\text{NO}_3^- < 50 \text{ mg.l}^{-1}$). Jestliže bylo zjištěno snižující se pH v daném RAS, byla na úpravu pH použita jedlá soda. Jestliže se v rámci RAS zvyšovaly hodnoty NH_4^+ , NO_2^- došlo v rámci systémů k výměně vody na úrovni 5 – 10 %. Světelné podmínky byly pro všechny skupiny a nádrže stejné. Byl zvolen světelný režim 12h světlo (od 7:00 do 19:00) a 12h tma s intenzitou světla 75 luxů, které dopadalo na hladinu nádrží.



Další chovatelské úkony týkající se čištění a odkalování odchovných nádrží, odstraňování a evidence uhynulých ryb byly realizovány stejným způsobem jako při produkci experimentálních ryb (viz kapitola 3.1 této zprávy).

Krmný den začínal v 7:00 a končil v 19:00. Trval v průběhu celého světelného dne. Denní krmná dávka byla stanovena na 2 % z aktuální biomasy ryb v dané nádrži. Během zmíněného období krmení byly ryby krmeny pomocí pásových hodinových krmítek (krmítko s kapacitou 5 kg krmiva). Množství spotřebovaného krmiva bylo evidováno pro účely pozdější kalkulace koeficientu konverze krmiva (viz kapitola 3.4 této zprávy). Během experimentálního odchovu byla předkládána následující krmiva firmy Biomar A/S bv (Brande, Dánsko; viz Tab. 2.). Krmivo Inicio 917, 1,5 mm bylo předkládáno v průběhu první fáze experimentu do 105. dne u candáta obecného do 84. dne u sumce velkého. U candáta obecného následně až do konce experimentu bylo předkládáno krmivo Inicio 702, 2 mm. Na FROV JU u odchovu sumce velkého bylo předkládáno krmivo Inicio 702, 2 mm od 85. dne do 147. dne odchovu a následně bylo aplikováno krmivo Efico alpha 717, 3 mm až do konce experimentu. U odchovu sumce velkého na FISH Farm Bohemia bylo od 85. dne až do konce odchovu aplikováno krmivo Aller Aqua Ltd. (Golub-Dobrzyń, Polsko) Primo, 2 a 3 mm.

Tab. 2: Krmiva od firmy Biomar A/S bv (Brande, Dánsko) a Aller Aqua Ltd. (Golub-Dobrzyń, Polsko) použitá během odchovu. Hodnoty deklarované výrobcem.

| | Inicio 917 | Inicio 702 | Efico alpha 717 | Primo |
|--------------------------|------------|------------|-----------------|----------|
| granulace | 1,5 mm | 2 mm | 3 mm | 2 a 3 mm |
| N-látky (%) | 47 | 41 | 41 | 37 |
| tuk (%) | 20 | 22 | 22 | 12 |
| vláknina (%) | 1,2 | 4,4 | 4,5 | 3,5 |
| popeloviny (%) | 7,3 | 6,4 | 5,6 | 7 |
| energie hrubá (MJ) | 22 | 22,5 | 22,2 | 19,6 |
| energie stravitelná (MJ) | 19,6 | 18,4 | 18,4 | 16,0 |
| vit. A (IU/kg) | 7600 | 4800 | 4800 | 4500 |
| fosfor (%) | 1,06 | 0,9 | 0,8 | 1 |
| vápník (%) | 1 | 0,74 | 0,71 | 0,7 |

3.4 Sledované parametry v průběhu testování ozonizace vody v RAS při odchovu ryb candáta obecného a sumce velkého

3.4.1 Sledování růstu (SGR), kondice (FK), konverze krmiva (FCR) a přežití odchovávaných ryb

Na začátku experimentu a na konci každého kontrolního období byly pravidelně monitorovány biometrické ukazatele 50 kusů odchovávaných ryb na každou použitou nádrž (celková délka těla TL, standardní délka těla SL, hmotnost W) a dále také počet přežívajících



ryb. Veškerá biometrická měření na živých rybách probíhala po anestezii v lázni hřebíčkového oleje (0,033 ml.l⁻¹). K měření TL a SL bylo použito klasického měřidla využívaného k biometrickému měření ryb a oba ukazatele byly měřeny s přesností na 1 mm. Ke kontrolnímu vážení hmotnosti odchovávaných ryb bylo využito digitálních vah (Mettler AE 200) od firmy Mettler Toledo s.r.o. (Česká republika) s přesností vážení na 0,01 g. Během kontrolních přelovení ryb nebylo aplikováno žádné krmivo.

V průběhu experimentu byly ze zjištěných biometrických údajů, spotřeby krmiva a počtu přežívajících ryb stanoveny a hodnoceny následující produkční ukazatele:

Specifická rychlost růstu (SGR v %·d⁻¹) = $\ln(W_k) - \ln(W_p) / t * 100$ - kde t je počet dní v daném období, W_p je průměrná hmotnost nasazovaných ryb a W_k je konečná průměrná hmotnost slovených ryb na konci období.

Fultonův koeficient (FK) = $(W / TL^3) * 100$ - kde W je průměrná kusová hmotnost a TL je celková délka těla odchovávaných ryb.

Koeficient konverze krmiva (FCR v g·g⁻¹) = $CKD / (KB - PB)$ - kde CKD je celková využitá krmná dávka za jednotlivé období (g), tzn. množství předloženého a zkrmeného krmiva, KB je konečná celková biomasa ryb v nádrži (g) a PB je počáteční biomasa ryb v nádrži v gramech.

Přežití ryb (P v %) = $(PPR/PNR) * 100$ - kde PPR je počet přeživších ryb (ks) a PNR je počet nasazených ryb (ks).

3.4.2 Fyzikálně-chemická kvalita vody

Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.3 této zprávy, základní fyzikálně chemické parametry vody jako je: teplota vody, obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě, pH, NH₄, NO₂⁻, NO₃⁻, ORP byly měřeny každý den pomocí běžně používaných metod v chovu ryb (vysvětlených v kapitole 3.3 této zprávy). Detailní chemismus vody v průběhu experimentu byl hodnocen ve 14 denním intervalu bez ohledu na zrovna probíhající kontrolní období. Odběr vody byl proveden do 1,5 litrových lahví, vždy v 7:00 před krmením ryb. Vzorky vody byly odebrány jak z odchovných nádrží, tak i z biologických filtrů daného RAS u skupiny ryb s ozonizovanou a neozonizovanou vodou (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -). Absorpční spektrofotometrií byly hodnoceny amonné ionty, dusičnany, dusitany a fosforečnany. Celkový fosfor se stanovil oxidačním rozkladem peroxodisíranem amonným v prostředí kyseliny sírové na rozpuštěné anorganické fosforečnany a jejich stanovení absorpční spektrofotometrií. Celkový dusík se stanovil fotometricky kyvetovým testem. Chemická spotřeba kyslíku (CHSK_{Mn}) se stanovila manganistanem draselným podle Kubela – přímý ohřev topnou deskou. Biologická spotřeba kyslíku (BSK₅) se stanovila manometricky na přístroji OxiTop podle normy DIN 38409. Ještě byly hodnoceny nerozpuštěné látky (NL 105). Veškeré tyto popsané metody stanovení byly aplikovány podle Horákové a kol. (1986). Vedle zmíněných parametrů kvality vody byl také měřen v průběhu experimentu optická hustota nerozpuštěných látek na vlnové délce 720 nm ve vodě, která charakterizovala zákal vody pomocí ručního AquaPen-C AP-C 100 od výrobce Photon Systems Instruments s.r.o. (Česká republika) v každé nádrži u obou testovaných skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) v intervalu 1x za 21 dní, vždy na konci daného období experimentu.



3.4.3 Posouzení stavu a poškození ploutví

Na konci experimentu bylo u obou experimentálních skupin (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) celkem posouzeno u 150 ryb každého druhu (candát a sumec). Byly hodnoceny všechny ploutve: pravá a levá prsní, pravá a levá břišní, malá a velká hřbetní u candáta, malá hřbetní u sumce, řitní a ocasní. Stav ploutví byl hodnocen dle Policar a kol. (2016) následovně: 0 – minimální poškození ploutví, (< 5 % poškození ploutve), 1 – malé poškození ploutve (> 5 % poškození < 30 %), 2 - střední poškození ploutve (> 30 % poškození < 70 %) a 3 – úplné poškození ploutve (poškození > 70 %). Následně u obou experimentálních skupin a druhů ryb byla stanovena frekvence výskytu jednotlivých stupňů poškození ploutví v procentním vyjádření. Výskyt poškození ploutví byl následně statisticky vyhodnocen (viz kapitola 3.5 této zprávy).

3.4.4 Posouzení kvality finálního produktu - senzorické hodnocení

Na konci experimentálního odchovu candáta obecného a sumce velkého s a bez ozonizace vody byla posouzena kvalita finálního produktu = filety (svaloviny) obou druhů ryb pomocí degustační zkoušky. V rámci této části projektu byly celkem porovnány 3 skupiny ryb. První kontrolní skupinou (n=30) byly ryby, candáti a sumci stejné věkové kategorie jako ryby z experimentu, ale původem odchovávané v rybníčních podmínkách. Druhou skupinou byly ryby chované ve vodě ošetřené ozonizací. Třetí skupinu představovaly ryby chované v podmínkách bez ozonizace vody.

Degustační zkouška kvality svaloviny zmíněných skupin obou druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) byla realizována díky panelu 10 nezávislých hodnotitelů. Směsné vzorky pro senzorickou analýzu byly odebrány stejným dílem z kraniální i kaudální části filetů s kůží tak, aby každý hodnotitel měl ve vzorkovnici zastoupeny obě partie s přibližně stejným podílem. Interval mezi zpracováním ryb a senzorickým hodnocením byl maximálně 3 hodiny a vzorky byly po celou dobu uchovány ve zchlazeném stavu. Vzorkovnice se vzorky byly označeny třímístným kódem, každá obsahovala poměrnou část z trupu přední a střední části bez ocasního násadce. Tepelná úprava vzorků trvala 20 minut při teplotě 250 °C. Použita byla nestrukturovaná hedonická stupnice. Senzorické hodnocení bylo prováděno ve třech opakováních v rozmezí 30 min. Byly sledovány čtyři jakostní znaky: vůně, chuť, pachůť a konzistence. Ke každému znaku byla předtištěna nestrukturovaná úsečka. Při získání výsledků se vycházelo z toho, že vzdálenost od začátku (žádoucí, kladná vlastnost) k označenému místu bude hodnocena ekvivalentem vyjadřujícím číselnou hodnotu intenzity vjemu v milimetrech. Čím bude tato vzdálenost větší, tím bude hodnocení méně příznivé.

3.4.5 Stanovení SSI, HSI a VSI

Na konci experimentu bylo u usmrcených experimentálních ryb obou skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) stanoven procentní hmotnostní podíl sleziny (SSI = Spleen Somatic Index), jater (HSI = Hepato Somatic Index) a tělního tuku (VSI = Viscero Somatic Index). Cílem stanovení těchto parametrů bylo zhodnotit kondiční a fyziologický stav odchovávaných druhů ryb v závislosti na použití či nepoužití ozonizace vody.

Prakticky tato část probíhala tak, že u každé usmrcené ryby (celkem bylo usmrceno 30 ryb od každého druhu a skupiny) došlo nejprve ke zvážení její hmotnosti a následně k vypreparování a zvážení jednotlivých orgánů, u kterých se indexy hodnotily (tzn. slezina, játra



a tělní tuk). Těla ryb a jednotlivé orgány se vážily s přesností na 0,0001g pomocí váhy KERN-ABT 220-SDM od firmy KERN & SOHN GmbH (Německo). Jednotlivé hodnocené parametry byly vypočítány následovně podle vzorců:

$$SSI = (\text{hmotnost sleziny} / \text{hmotnost těla}) \times 100$$

$$HSI = (\text{hmotnost jater} / \text{hmotnost těla}) \times 100$$

$$VSI = (\text{hmotnost tělního tuku v dutině břišní} / \text{hmotnost těla}) \times 100.$$

Statisticky se jednotlivé parametry hodnotily v rámci druhu a porovnávaly se mezi oběma experimentálními skupinami.

3.4.6 Sledování zdravotního stavu a welfare ryb

Vyšetření zdravotního stavu obou skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) se realizovalo v průběhu experimentu 10 krát, a to na začátku a na konci experimentu či v průběhu experimentu v 28 denních intervalech. Zdravotní stav a welfare ryb se hodnotily v následujících krocích vždy u tří ryb každého druhu a skupiny, tzn: 3 ryby candáta obecného ze skupiny ozón +, 3 ryby candáta obecného ze skupiny ozón -, 3 ryby sumce velkého ze skupiny ozón + a 3 ryby sumce velkého ze skupiny ozón -.

3.4.6.1 Biometrické měření a patologické vyšetření

Před každým vyšetřením zdravotního stavu byla ryba rychle a bezbolestně usmrcena. Následně po usmrcení byla změřena a zvážena (stejným způsobem popsáným v kapitole 3.1 a 3.4 této zprávy). Dále bylo provedeno makroskopické vyšetření ryb zaměřené na patologické změny a výskyt makroskopicky diagnostikovatelných parazitů.

Během jednotlivých vyšetřování zdravotního stavu a welfare odchovávaných ryb obou druhů a skupin v průběhu 231 denního odchovu bylo z makroskopických patologických nálezů nejčastěji diagnostikováno poškození jater, ve smyslu tukové degenerace jaterní tkáně. Stupeň poškození byl hodnocen číselnou stupnicí 1-4 dle zbarvení jaterní tkáně: 1= fyziologické růžové; 2= světlé růžové; 3= žluté; 4=bílé a následně bylo stanoveno procentuální zastoupení jednotlivých stupňů poškození ploutví u jednotlivých druhů ryb a testovaných skupin.

3.4.6.2 Parazitologické vyšetřování

Parazitologické vyšetření bylo prováděno mikroskopickým vyšetřením stěru z celé levé poloviny těla ryby, včetně ploutví, a ze všech žaberních oblouků z levé skřelové dutiny. Při zvětšení mikroskopu 40-400x bylo provedeno vyšetření celého preparátu na podložním sklíčku. Jestliže bylo identifikované jakákoliv parazitární infekce, došlo k druhovému určení parazita, následně ke stanovení intenzity nákazy (ojedinělá, slabá, střední a masová infekce) a prevalenci, která charakterizovala kolik procent ryb je parazitárním onemocněním postiženo. V případě parazitárních infekcí v jakékoliv variantě (ozón + či ozón -) bylo nutné použít v odchovných systémech dlouhodobé antiparazitární koupele (ve formaldehydu 36-38 % od firmy Kulich, Česká republika v dávce 1,5 ml na 100 litrů vody nebo kuchyňské soli, NaCl, v dávce 1g.l⁻¹), která byla aplikována do celého RAS s cílem zabránit masovému namnožení parazitů v daném chovu a následným masovým úhynům odchovávaných ryb a tím ukončení daného experimentu. Vedle toho koupel ve zmíněném roztoku kuchyňské soli byl také v průběhu experimentu použit u obou testovaných skupin obou druhů ryb jako prevence před zaplísněním ryb po jejich manipulaci a biometrickém měření.



3.4.6.3 Suspektní bakteriologické vyšetřování

Suspektní bakteriologické vyšetřování bylo prováděno mikroskopickým vyšetřením stěru z celé levé poloviny těla ryby, včetně ploutví, a ze všech levostranných žaberních oblouků. Při zvětšení mikroskopu 400x bylo provedeno vyšetření celého preparátu a zaznamenána prevalence (%) a intenzita výskytu (ojedinělá – slabá – středně silná) blíže neidentifikovaných bakterií. Při vyšší prevalenci středně silného výskytu bakterií u ryb nad 80 % byla v chovech určitého napadeného druhu a skupiny použita preventivní protibakteriální koupel ryb v podobě přípravku Chloramin T v dávce 20 mg na 1 litr bez průtoku vody v dané nádrži po dobu 20 minut.

3.4.6.4 Histologické vyšetření žaber

Histologické vyšetření žaber bylo na začátku (28 dní po zahájení experimentu) a na konci 231 denního odchovu provedeno podle Bancrofta a Gambleho (2002) a Takashimy a Hibiya (1995). Vzorky žaber byly odebrány ihned po usmrcení ryby. Celé pravostranné žaberní oblouky byly vcelku vloženy do 10 % pufovaného formalinu, po 2 dnech byly převedeny do 70 % etanolu a za další 1-2 dny byly vyjmuty a zality do parafínu. Histologické preparáty pak byly barveny hematoxylin-eosinem. Následně změny u testovaných ryb (candát ozón + a sumec ozón +) byly porovnány s kontrolní skupinou (candát ozón - a sumec ozón -).

3.4.6.5 Stanovení biochemického profilu krve ryb

Stanovení biochemického profilu krve ryb bylo provedeno jedenkrát pouze při ukončení experimentu. Důvodem byly opakovaně makroskopicky nacházené patologické změny na játrech ryb v souvislosti s tukovou degenerací jaterní tkáně. Při stanovení biochemického profilu krve bylo postupováno podle metodiky Kolářová a Velíšek (2012). Krev byla odebrána před usmrcením ryby z ocasních cév do heparinizovaného odběrového materiálu (pro stabilizaci 1 ml krve ryb bylo použito 0,01 ml přípravku Heparin Léčiva injekční roztok 1x 10 ml od firmy Zentiva, k. s., Česká republika). Odebraná krev byla hned po odběru odstředěna při 4000 otáčkách po dobu 10 min. Krevní plazma byla odsáta a uložena do -80°C. Měření biochemických parametrů bylo provedeno na biochemickém analyzátoru VETTEST 8008 s cílem stanovit a zhodnotit úroveň stresu (kortizol) a jednotlivých parametrů charakterizující postižení jater ((albumin (ALB), alkalická fosfatáza (ALP), alanin aminotransferáza (ALT), aspartát aminotransferáza (AST), celkové bílkoviny (TP), amoniak (NH₃), laktát dehydrogenáza (LDH) a laktát (LACT)) u obou experimentálních skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -).

3.4.6.6 Stanovení úrovně oxidativního stresu.

Úroveň oxidativního stresu u experimentálních ryb obou skupin a druhů byla stanovena na začátku experimentu (1. den), 14 respektive 35 dní po zahájení testu a následně poslední den při ukončování experimentu. Snahou bylo zhodnotit vliv ozonizace či nepoužití ozonizace vody v RAS na výskyt biomarkerů oxidativního stresu či antioxidantních biomarkerů v jaterní a žaberní tkáni odchovávaných ryb. Pro tuto část projektu bylo použito 10 ryb od každého druhu a každé skupiny (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón +, sumec ozón-). Po usmrcení ryby byla odebrána jaterní a žaberní tkáň, vzorky byly zmrazeny a uchovány při -80°C až do doby provedení analýz.



Před analýzou byly vzorky zváženy a homogenizovány (1:10 w/v) pomocí Ultra Turrax homogenizátoru (Ika, Německo) za použití 50 mM fosfátového pufru (pH 7, obsahující 0,5 mM EDTA). Homogenát byl rozdělen na dvě části, první část homogenátu byla použita pro stanovení biomarkeru oxidativního stresu bez centrifugace TBARS testu (látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou) a druhá pro stanovení antioxidantních biomarkerů, kdy byl homogenát pro všechny tyto biomarkery před stanovením centrifugován (CAT- aktivita katalázy a SOD - celková aktivita superoxidní dismutázy: centrifugace 30min při 30 000rpm a 4°C, ostatní antioxiparametry: 15 min při 10 000 rpm a 4°C). Oxidativní poškození bylo vyhodnoceno pomocí lipidní peroxidace, která byla stanovena pomocí TBARS testu (látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou) podle metody Lushchak a kol. (2005). Celková aktivita superoxidní dismutázy (SOD; ES 1.15.1.1) byla stanovena spektrofotometricky při 420 nm (Marklund a Marklund, 1974). Aktivita katalázy (CAT, 1.11.1.6 ES) byla měřena spektrofotometricky při 240 nm podle metody Beers a Sizer (1952). Aktivita glutathion reduktázy (GR, ES 1.6.4.2) byla stanovena spektrofotometricky, měřením oxidace nikotinamid adenin dinukleotid fosfátu (NADPH) při 340 nm (Carlberg a Mannervik, 1975). Množství redukovaného glutathionu (GSH) bylo zjištěno pomocí metody Ferrari a kol. (2007). Enzymatická aktivity glutathion-S-transferázy (GST) byla stanovena spektrofotometricky při 340 nm (Habig a kol., 1974). Po stanovení a zpracování hodnot zmíněných biomarkerů byly jednotlivé hodnoty statisticky porovnány v rámci daného použitého druhu a mezi experimentálními skupinami (skupina candát ozón + se skupinou candát ozón – nebo skupina sumec ozón + se skupinou sumec ozón-) viz kapitola 3.5 této zprávy.

3.4.6.7 Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb, vody a biologických filtrů

Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb a vody z odchovných nádrží probíhalo na Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie (Fakulta veterinárního lékařství, VFU Brno). Vzorky byly v den odebrání a transportu následně zpracovány a kultivovány na sestavu 3 kultivačních médií: Anacker a Ordal agar, Mueller-Hinton agar a Columbia agar s 5 % ovčí krve. Vzorky vody byly homogenizovány a desetinásobně ředěny (1:10, 1:100 a 1:1000), z každého ředění bylo kultivováno roztěrem 100 μ l vzorku na povrch agarů. Z jednotlivých vzorků ryb byla, pokud možno asepticky, získána tkáň žaber, ta byla vážena, homogenizována a následně kultivováno základní ředění. Z kůže každé ryby byl získán stěr sterilním tamponem, který byl kultivován roztěrem na povrchu agarů. Všechna média byla inkubována při teplotě 22°C \pm 2°C po dobu 5 dnů. Poté byla stanovena přepočtem koncentrace heterotrofních kultivovatelných bakterií na gram.ml⁻¹ vzorku. Početně nejvíce zastoupené typy kolonií byly dále subkultivovány a identifikovány hmotnostní spektrometrií MALDI TOF (Bruker).

Výsledkem této části projektu bylo stanovení průměrného celkového počtu kultivovatelných bakterií v 1 gramu tkáně žaber dvou odchovávaných skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón +, sumec ozón-) a 1 ml vody a dále také četnost koliformních bakterií v 1 ml vody u odchovných nádrží zmíněných obou odchovávaných skupin a druhů ryb.

Z důvodu omezené kapacity kolegů z VFU Brno byly tyto parametry stanoveny v průběhu experimentu pětkrát a to ve datech 3.10. 2016, 21.11. 2016, 9.1. 2017, 20.2. 2017, 3.4. 2017 s cílem posoudit vliv použití ozonizace vody v RAS na průběh bakteriální kontaminace vody v odchovných nádrží a žaber chovaných ryb.



3.5 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení

Veškeré výsledky týkající se všech produkčních ukazatelů, parametrů kvality vody, stupně poškození ploutví, senzorké kvality masa odchovaných ryb, kondice a fyziologického stavu ryb, stupně poškození jater ryb, procentuální prevalence parazitárního a bakteriálního onemocnění ryb, bakteriální kontaminace žaber ryb, bakteriální kontaminace vody jsou prezentovány jako průměr \pm směrodatná odchylka u obou druhů a skupin ryb a to souhrnně z obou pracovišť, na kterých byl experiment realizován (FFB a FROV JU). Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno v programu Statistica 12 (StatSoft Inc., USA). Získaná data pro specifickou rychlost růstu (SGR), kondiční stav ryb (FK), jednotlivé parametry kvality vody a intenzity senzorké kvality svaloviny odchovávaných ryb vykazovaly normální rozdělení a pro vzájemné porovnání dvou experimentálních skupin (ozón + a ozón -) jednotlivých druhů ryb (candát obecný a sumec velký) byla použita analýza rozptylu – ANOVA, Tukey HSD test. Pro transformaci procentuálních dat (přežití odchovávaných ryb, procentní zastoupení stupně poškození ploutví a procentní podíl sleziny, jater a tělního tuku byla použita arcsinová transformace. V případě data, která neměla normální rozdělení, byl použit Kruskal-Wallisův test. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha=0,05$.

Použitá literatura:

- Bancroft, J.D., Gamble, M., 2002. Theory and practice of histological techniques, fifth ed. Churchill Livingstone, New York.
- Beers, R. F., Sizer, I. W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem., 195: 133–140.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1975. Purification and characterization of flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. J. Biol. Chem., 250: 5475–5480.
- Ferrari, A., Venturino, A., de D'Angelo, A.M.P., 2007. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes. Pestic.Biochem. Physiol., 88: 134–142.
- Habig, W. H., M. J. Pabst, W. B. Jakoby, J. 1974. Glutathione S-Transferases – First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. Journal of Biological Chemistry 249(22): 7130-7139.
- Horáková, M., Lischke, P., Grünwald, A., 1986. Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha, 389 s.
- Takashima, F., Hibiya, T., 1995. An atlas of fish histology : normal and pathological features. Tokyo Stuttgart ; New York: Kodansha Ltd. ; Gustav Fischer distributor
- Kolářová, J., Velíšek, J., 2012. Stanovení a vyhodnocení biochemického profilu krve ryb. Edice Metodik, VÚRH FROV JU Vodňany, č.135, 54s.
- Lushchak, V. I., Bagnyukova, T. V., Husak, V. V., Luzhna, L. I., Lushchak, O. V., Storey, K. B., 2005. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues. Int. J. Biochem. Cell Biol., 37: 1670–1680.
- Marklund, S., Marklund, G., 1974. Involvement of superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem., 47:469–474.
- Polícar, T., Blecha, M., Křišťan, J., Mráz, J., Velíšek, J., Stará, A., Stejskal, V., Malinovskyi, O., Svačina, P., Samarin, A. M., 2016. Comparison of production efficiency and quality of differently cultured pikeperch (*Sander lucioperca* L.) juveniles as a valuable product for on-growing culture. Aquacult. Int., 24: 1607 – 1626.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

4 Výsledky

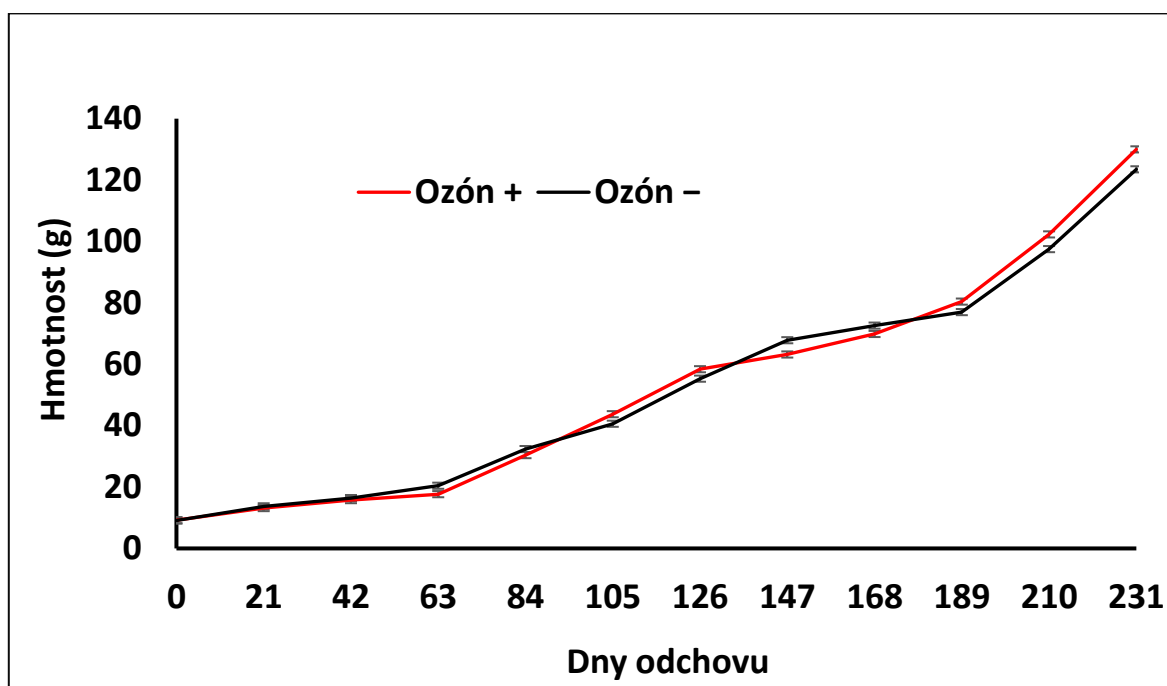
4.1 Průběh kusové průměrné hmotnosti těla a celkové délky u candáta obecného odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody

Z předloženého Grafu 1 je patrný průběh průměrné kusové hmotnosti u candáta obecného v průběhu celého experimentálního odchovu u obou skupin s ozonizací vody a bez ozonizace vody v testovaných RAS. Z uvedeného grafu je patrné, že nebyly zaznamenány statistické rozdíly u obou skupin ryb a nebyl tak potvrzen pozitivní či negativní vliv ozonizace vody na růst

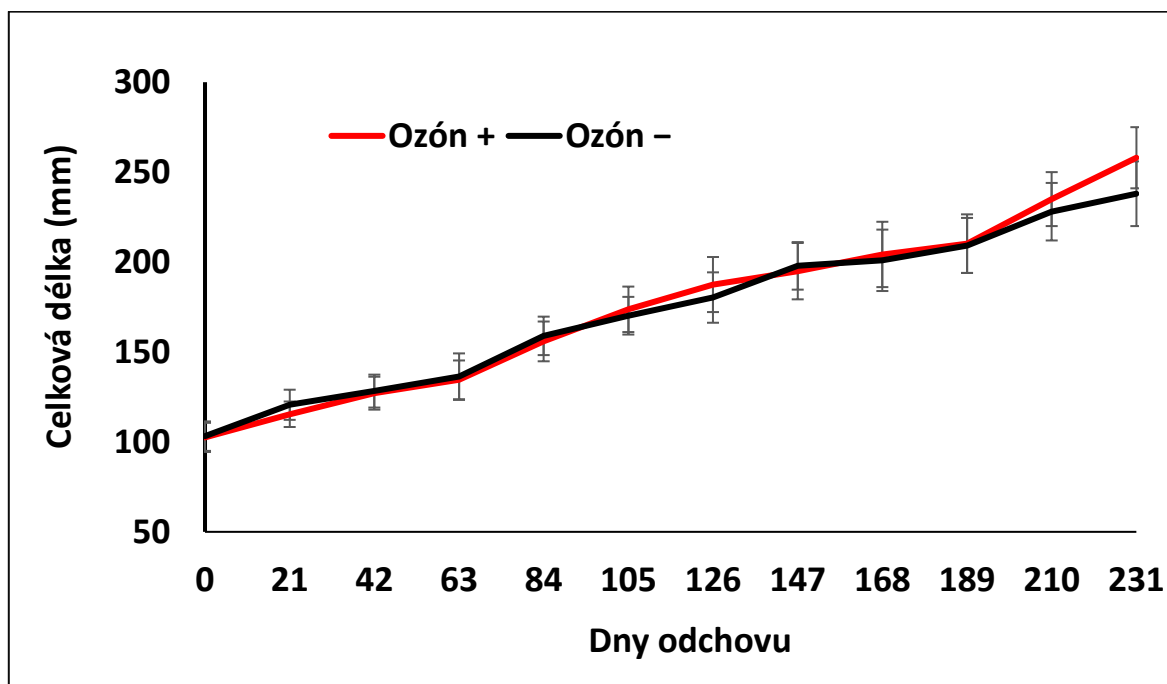


andáta obecného. Na konci odchovu po 231 dnech andáti obecní s ozonizací vody dosáhli průměrné kusové hmotnosti $W = 130,0 \pm 26,2$ gramů. Ryby andáta obecného bez ozonizace vody dosáhly po 231 dnech odchovu průměrné kusové hmotnosti $W = 123,5 \pm 21,3$ gramů.

Graf 2 znázorňuje průběh průměrné celkové délky odchovávaných andátů obecných v průběhu celého experimentu. U celkové délky těla také nebyly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly podobně, jako tomu bylo u hmotnosti odchovávaných ryb. Na konci experimentu byla celková délka u andátů obecných s ozonizovanou vodou $TL = 258,0 \pm 16,3$ mm u andátů obecných chovaných bez ozonizované vody na hodnotě $TL = 238,0 \pm 15$ mm.



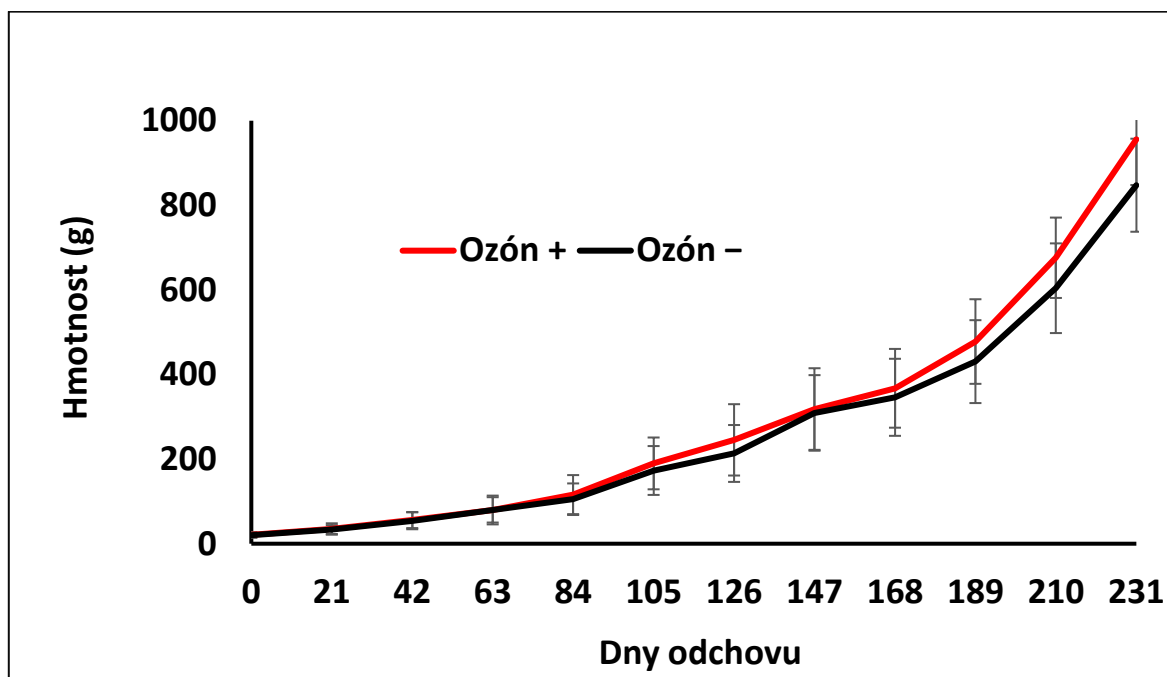
Graf 1: Průběh kusové průměrné hmotnosti těla (W v gramech) u andáta obecného odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody v průběhu 231 denním odchovu.



Graf 2: Průběh kusové průměrné celkové délky (TL v mm) u candáta obecného odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody v průběhu 231 denním odchovu.

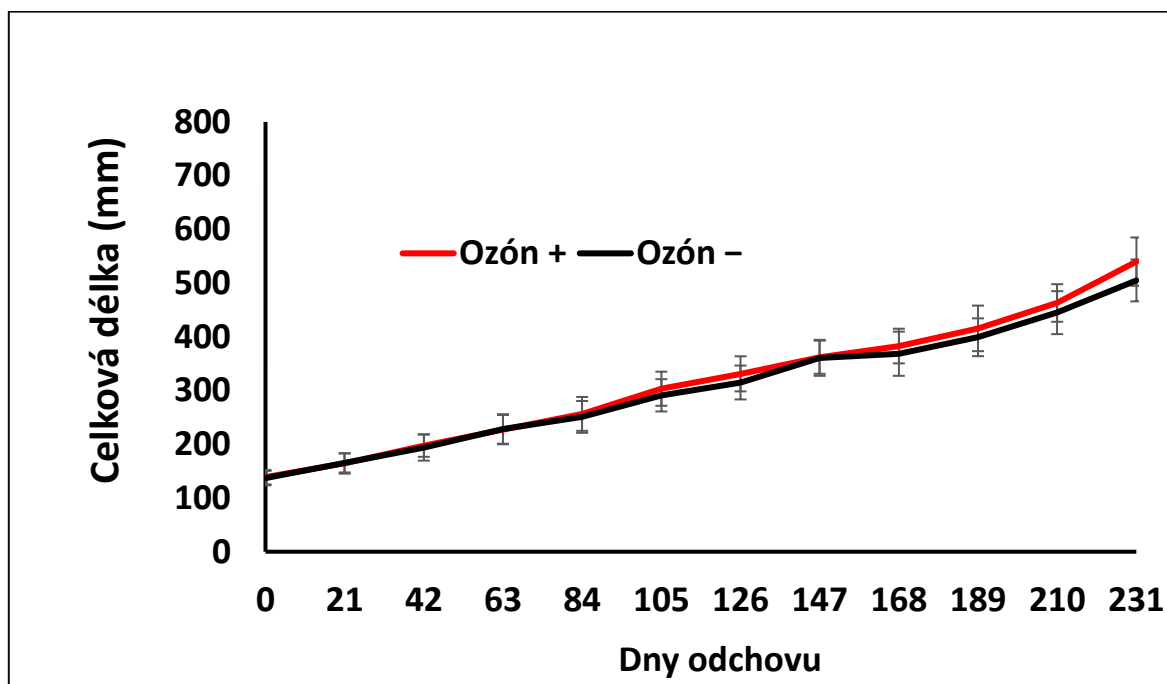
4.2 Průběh kusové průměrné hmotnosti těla a celkové délky u sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody

Z grafu 3 je patrný průběh průměrné kusové hmotnosti u sumce obecného odchovávaného při ozonizaci a bez ozonizace vody v RAS. V průběhu a na konci experimentu nebyly zaznamenány rozdíly v dosahovaných hmotnostech u obou skupin ryb odchovávaného sumce velkého a podobně jako u candáta obecného nebyl prokázán žádný vliv ozonizace na hmotnostní růst odchovávaných sumců velkých v experimentálních RAS. Na konci odchovu sumci velcí v RAS s ozonizací vody dosáhli průměrné kusové hmotnosti $W = 956,0 \pm 169,3$ gramů. Vedle toho ryby sumce velkého chované v RAS bez ozonizace vody na konci odchovu dosáhly průměrné kusové hmotnosti $W = 847,5 \pm 132,9$ gramů.



Graf 3: Průběh kusové průměrné hmotnosti těla (W v gramech) u sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody v průběhu 231 denním odchovu.

Graf 4 znázorňuje průběh průměrné celkové délky u odchovávaných ryb sumce velkého v průběhu celého 231 denního experimentu. U jednotlivých hodnot celkové délky odchovávaných sumců velkých také nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly mezi testovanými skupinami (sumec ozón + a sumec ozón -). Na konci experimentu se celková délka odchovávaných sumců velkých z RAS s ozonizací vody pohybovala na úrovni $TL = 540,0 \pm 42,4$ mm a u ryb z RAS bez ozonizace vody na hodnotě $TL = 505,0 \pm 35,2$ mm.



Graf 4: Průběh kusové průměrné celkové délky (TL v mm) u sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody v průběhu 231 denním odchovu.

4.3 Fultonův koeficient u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody na konci 231 denního experimentálního odchovu

Průměrná hodnota Fultonova koeficientu se u odchovávaného candáta obecného pohybovala na konci odchovu na úrovni $FK = 0,76 - 0,91$ a vyjadřovala dobrý kondiční stav ryb, který byl i patrný z běžného chovatelského pohledu na ryby (Tab. 3). U odchovávaných ryb sumce velkého byl zjištěn nižší Fultonův koeficient $FK = 0,61 - 0,65$ oproti candátovi obecnému, avšak kondiční stav ryb tohoto druhu byl velmi dobrý. Rozdílné hodnoty FK souvisí především se stavbou těla různých druhů, které jsou u candáta obecného a sumce velkého poměrně odlišné.

Fultonův koeficient (FK) v rámci daného druhu nebyl prokazatelně statisticky odlišný u jednotlivých experimentálních skupin ryb. Z těchto výsledků vyplývá, že nebyl prokázán pozitivní ani negativní vliv ozonizace vody v RAS na kondiční stav odchovávaných ryb obou druhů.



Tab. 3: Souhrnné výsledky FK na konci odchovu candáta obecného a sumce velkého v RAS s ozonizovanou a neozonizovanou vodou. Hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p \leq 0,05$) při porovnání parametru v rámci stejného druhu.

| Experimentální skupina | FK |
|------------------------|-------------------|
| candát ozón + | $0,76 \pm 0,05^a$ |
| candát ozón - | $0,91 \pm 0,07^a$ |
| sumec ozón + | $0,61 \pm 0,04^a$ |
| sumec ozón - | $0,65 \pm 0,05^a$ |

4.4 Specifická rychlost růstu po celém experimentálním odchovu trvajícím 231 dní

Obecně byla u odchovávaného candáta obecného po celém experimentálním odchovu v obou skupinách zjištěna velmi nízká rychlost růstu na úrovni $1,13 - 1,15 \text{ \%} \cdot \text{d}^{-1}$ bez statistického rozdílu mezi skupinami (Tab. 4). Podle našich získaných zkušeností mohla být nízká SGR především způsobena nízkou hustotou odchovávaných ryb, kdy na začátku experimentu byly ryby do nádrží nasazeny v jednotné počáteční hustotě 0,3 ks ryby na 1 litr. Ryby se v průběhu experimentu v nádržích velmi plašily a narážely do stěn odchovných nádrží, především v průběhu obsluhy nádrží a celého RAS. Dalším negativním vlivem u skupiny candátů obecných ošetřených ozónem byla vysoká průhlednost vody v nádržích, která byla způsobena minimálním zákalem vody. Vysoká průhlednost vody v daných nádržích následně způsobovala vysoké a časté splašení ryb při obsluze RAS a odchovných nádrží. Ovšem rozdíl v růstu mezi skupinou candát ozón + a candát ozón - nebyl prokázán, i když v nádržích v RAS bez ozonizace vody byl vyšší zákal vody a ryby se chovaly více přirozeně. Závěrem lze konstatovat, že ryby candáta obecného na konci odchovu ve věku 1+ dosáhly obecně velmi malých rozměrů a hmotnosti, která neodpovídá tržní velikosti takto odchovávaných ryb v RAS v daném věku tohoto druhu ryb. Z tohoto důvodu je nutné rybářské praxi určitě doporučit využívat k intenzivnímu odchovu candátů vyšší používané hustoty odchovávaných ryb, vyšší teplotu vody (na úrovni $23 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$) a také větší, prostornější a tmavší odchovné nádrže, které by odchovaným rybám candáta obecného poskytovaly větší pocit bezpečnosti.

U odchovávaných ryb sumce velkého byly zjištěny vyšší hodnoty SGR na úrovni ($1,62 - 1,65 \text{ \%} \cdot \text{d}^{-1}$) než u candáta obecného za celý 231 denní odchov (Tab. 4). Avšak byla zjištěna velmi podobná rychlost růstu v obou skupinách odchovávaných ryb bez ohledu na využití ozonizace vody v RAS. Ryby dosáhly finální hmotnosti kolem 1 kilogramu, což lze považovat za minimální velikost tržních ryb. Na tomto místě je nutné zase zmínit, že SGR by měla být při intenzivním odchovu sumce velkého vyšší alespoň o $10 - 25 \text{ \%}$ oproti dosaženému růstu v tomto experimentu. Pro vyšší růst ryb je pravděpodobně důležité při intenzivních odchovech sumce velkého používat vyšší počáteční hustotu ryb a vyšší teplotu vody než, která byla použita ve zmíněném experimentu.



Tab. 4: Souhrnné výsledky SGR na konci odchovu candáta a sumce v ozonizované a v neozonizované vodě. Hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p \leq 0,05$) při porovnání parametru v rámci stejného druhu.

| Experimentální skupina | SGR (% \cdot d ⁻¹) |
|------------------------|----------------------------------|
| candát ozón + | 1,15 \pm 0,12 ^b |
| candát ozón – | 1,13 \pm 0,1 ^b |
| sumec ozón + | 1,65 \pm 0,25 ^a |
| sumec ozón – | 1,62 \pm 0,21 ^a |

4.5 Konverze živin u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody na konci 231 denního experimentálního odchovu

Obecně u odchovávaných candátů obecných byl zjištěn vyšší koeficient konverze krmiva FCR = 3,05 – 3,13 g.g⁻¹ oproti FCR dosaženého u odchovávaných sumců velkých (1,82 – 1,87 g.g⁻¹). Tato skutečnost byla způsobena následujícími faktory: současná komerční krmiva nejsou fyziologicky plně vhodná pro výživu candáta obecného, byl sledován vyšší stres a plašení u odchovávaných candátů v odchovných nádržích oproti odchovávanému sumci, který nebyl významně v chovu rušen a současně není tak náročný na výživu jako candát při dostatečném množství komerčních krmiv vhodných pro výživu a odchov sumce. Hodnoty FCR u obou druhů ryb mezi experimentálními skupinami (ozón + a ozón –) se statisticky od sebe nelišily (Tab. 5).

Tab. 5: Souhrnné výsledky FCR na konci odchovu candáta a sumce v ozonizované a v neozonizované vodě. Hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p \leq 0,05$) při porovnání parametru v rámci stejného druhu.

| Experimentální skupina | FCR (g.g ⁻¹) |
|------------------------|------------------------------|
| candát ozón + | 3,05 \pm 0,27 ^a |
| candát ozón – | 3,13 \pm 0,33 ^a |
| sumec ozón + | 1,82 \pm 0,15 ^a |
| sumec ozón – | 1,87 \pm 0,18 ^a |

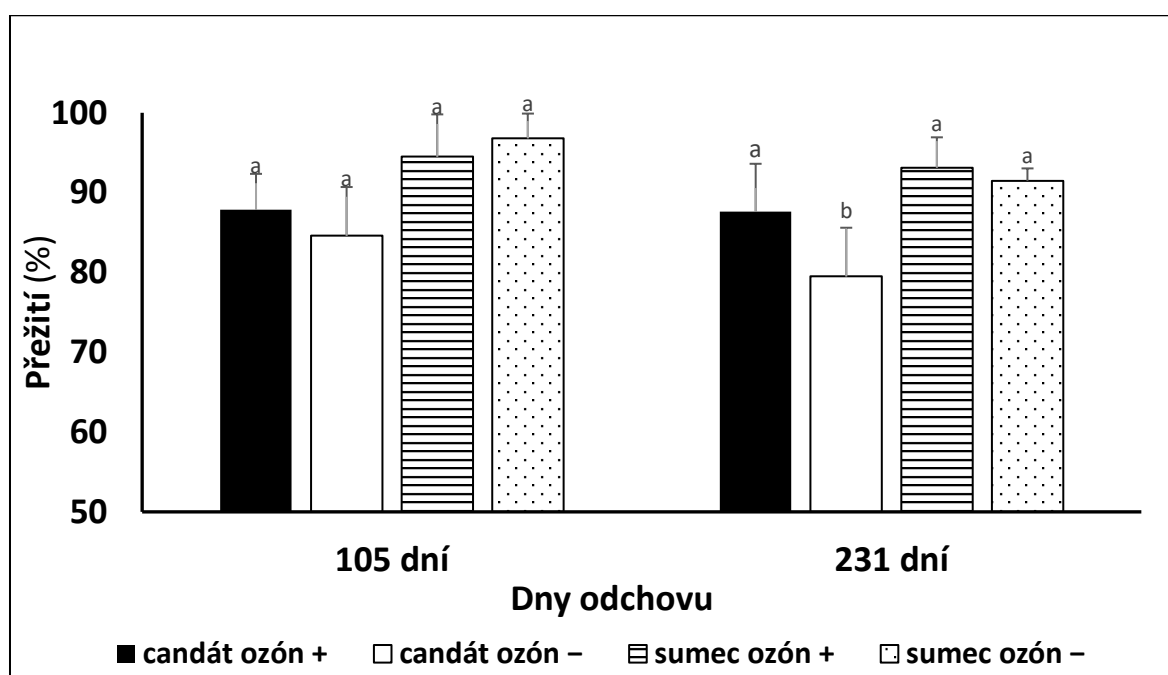
4.6 Kumulativní přežití odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v podmínkách RAS s a bez ozonizace vody v průběhu a na konci 231 denního experimentálního odchovu

Po první části tohoto projektu, kdy byla v průběhu 105 dní porovnávána kontinuální ozonizace vody v RAS se skupinou bez ozonizace vody, bylo zjištěno kumulativní přežití



candáta obecného v obou skupinách na podobné úrovni dosahující 87,9 % ve skupině candát ozón+ a 84,6 % u skupiny candáta odchovávaného bez ozonizace vody v RAS. Obecně tyto hodnoty nebyly mezi skupinami statisticky rozdílné. Po druhé části, kdy byla testována periodická ozonizace vody v RAS využívající vyšší dávky ozónu po kratší dobu, byly u candáta obecného zjištěny statistické rozdíly v přežití mezi experimentálními skupinami. Skupina candáta obecného s ozonizací vody v RAS dosáhla vyššího přežití (87,6 %) oproti skupině candáta obecného bez ozonizace vody v RAS (79,5 %; Graf 5). Podobné statistické rozdíly byly zjištěny u celkového kumulativního přežití ryb candáta obecného za celé období odchovu, kdy skupina s ozonizací vody dosáhla vyššího kumulativního přežití na úrovni 77,0 % oproti skupině bez ozonizace vody s nižším kumulativním přežitím na úrovni 67,2 %. Z těchto výsledků vyplývá, že přežití odchovávaného candáta obecného bylo pozitivně ovlivněno především periodickým používáním ozónu v RAS.

U odchovu sumce velkého nebyly prokázány žádné statistické rozdíly v přežívání ryb v žádném období odchovu a ani v rámci celého odchovného období. Ryby sumce velkého po prvním období dosáhly ve skupině s ozonizací vody kumulativního přežití za 105 dní na úrovni 94,5 % a skupina ryb bez ozonizace vody dokonce 96,8 %. Po druhém období zahrnující periodickou ozonizaci vody v RAS dosáhly ryby sumce velkého přežití na úrovni 93,1 % a ryby bez ozonizace 91,5 % (Graf 5). Celkové kumulativní přežití sumce velkého za 231 denní odchov bylo u ryb s ozonizací vody v RAS na úrovni 93,1 % a bez ozonizace vody na úrovni 91,5 % bez jakéhokoliv statistického rozdílu.



Graf 5: Kumulativní přežití juvenilních candátů a sumců v polovině a na konci experimentu. Hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p \leq 0,05$).



4.7 Fyzikálně-chemická kvalita vody

Jednotlivé základní parametry kvality vody se v průběhu odchovu ryb pohybovaly na následujících hodnotách: teplota vody = $22,1 \pm 0,47$ °C, $O_2 = 108 \pm 15$ %, pH = $7,1 \pm 0,5$, $NH_4^+ = 0,28 \pm 0,21$ mg.l⁻¹, $NO_2^- = 0,21 \pm 0,18$ mg.l⁻¹. Hodnoty zmíněných parametrů kvality vody byly ve všech odchovných nádržích velmi podobné a vhodné pro chov obou testovaných druhů. Zmíněné hodnoty nebyly v jednotlivých odchovných nádržích statisticky rozdílné.

Průměrné výsledné hodnoty detailního chemismu vody je zaznamenán v Tab. 6. Z výsledků je patrné, že veškeré parametry týkající se koloběhu dusíku a fosforu v RAS nebyly ozonizací vody v RAS nijakým způsobem ovlivněny. Kvalita vody v nádržích, které byly napojeny na RAS s ozonizací vody, vykazovala statisticky nižší hodnoty chemické a biologické spotřeby kyslíku oproti nádržím napojených na RAS bez ozonizace vody. Současně voda v nádržích a biologických filtrech napojených na RAS s ozonizací vody obsahovala nižší množství nerozpuštěných látek. Z těchto výsledků jasně vyplývá, že ozonizace vody v RAS systému pomáhá odbourávat organické znečištění vody v podobě různých organických rozpuštěných či nerozpuštěných látek.

Tab.: 6. Průměrné výsledné hodnoty detailního chemismu vody v různých částech RAS s ozonizovanou a neozonizovanou vodou. Hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p < 0,05$) v rámci daného sloupce (místa a ošetření RAS).

| | $NH_4^+ - N$ (mg.l ⁻¹) | $NO_3^- - N$ (mg.l ⁻¹) | $NO_2^- - N$ (mg.l ⁻¹) | N- celkový (mg.l ⁻¹) | P- celkový | CHSK _{Mn} (mg.l ⁻¹) | BSK ₅ (mg.l ⁻¹) | Neroz- puštěné látky |
|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|----------------------------|---|---|----------------------------|
| Nádrž ozón - | 0,37 ± 0,1 ^a | 26,4 ± 10,2 ^a | 0,09 ± 0,03 ^a | 34,6 ± 10,9 ^a | 1,44 ± 0,6 ^a | 10,7 ± 1,6 ^a | 8,1 ± 1,3 ^a | 8,17 ± 6,2 ^a |
| Nádrž ozón + | 0,31 ± 0,1 ^a | 23,6 ± 9 ^a | 0,06 ± 0,02 ^a | 29,4 ± 8,9 ^a | 1,22 ± 0,6 ^a | 6,4 ± 1,2 ^b | 5,32 ± 1,8 ^b | 4,3 ± 2,8 ^b |
| Biol. filtr ozón - | 0,35 ± 0,1 ^a | 27,1 ± 10,3 ^a | 0,09 ± 0,03 ^a | 35,1 ± 10,6 ^a | 1,58 ± 0,2 ^a | 10,6 ± 2,9 ^a | 8,6 ± 1,7 ^a | 8,4 ± 6,2 ^a |
| Biol. filtr ozón + | 0,31 ± 0,1 ^a | 22,7 ± 8,9 ^a | 0,07 ± 0,15 ^a | 30,0 ± 8,9 ^a | 1,26 ± 0,7 ^a | 7,2 ± 2,1 ^a | 6,0 ± 2,3 ^a | 4,3 ± 1,5 ^b |

Předchozí zmíněné závěry byly potvrzeny zjištěnou průměrnou optickou hustotou nerozpuštěných látek obsažených ve vodě pocházející z nádrží s odchovávanými candáty obecnými a sumci velkými v závislosti na ozonizaci či neozonizaci vody v RAS. U nádrží s oběma druhy ryb bez ozonizace vody v RAS byla zjištěna statisticky vyšší optická hustota (absorbance) nerozpuštěných látek ve vodě v podobě $OHNL_{720nm} = 0,0085 \pm 0,0018$ charakterizující vyšší zákal vody oproti nádržím s oběma druhy bez ozonizace vody ($OHNL_{720nm} = 0,0041 \pm 0,0005$). Tím byl exaktně potvrzen závěr, že ozonizace vody významným způsobem omezuje zákal a průhlednost vody v odchovných nádržích, kdy tato skutečnost byla v průběhu experimentu sledována obsluhou na vlastní oči.

Na konci experimentu bylo zjištěno, že voda ve všech nádržích (bez ohledu na rybí druh a ošetření vody ozónem v RAS) měla velmi podobný oxidačně redukční potenciál (ORP = $230,5 \pm 35,2$ mV). Tím bylo zjištěno, že námi používaná ozonizace vody v daných RAS neměla vliv na výskyt oxidačních a redukčních látek ve vodě daných odchovných nádrží.

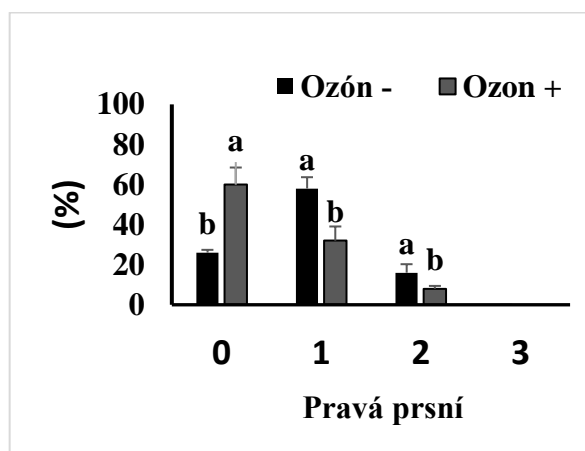
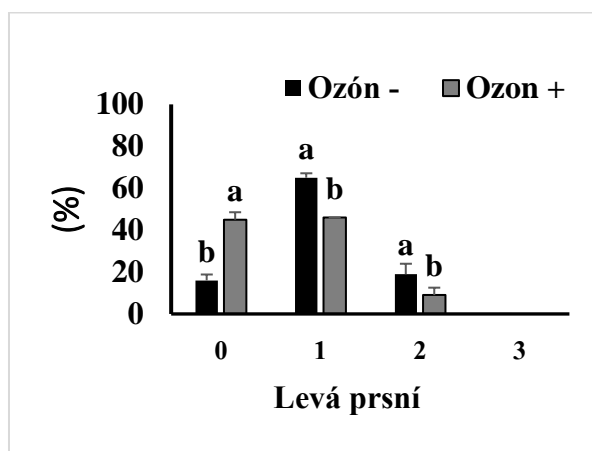


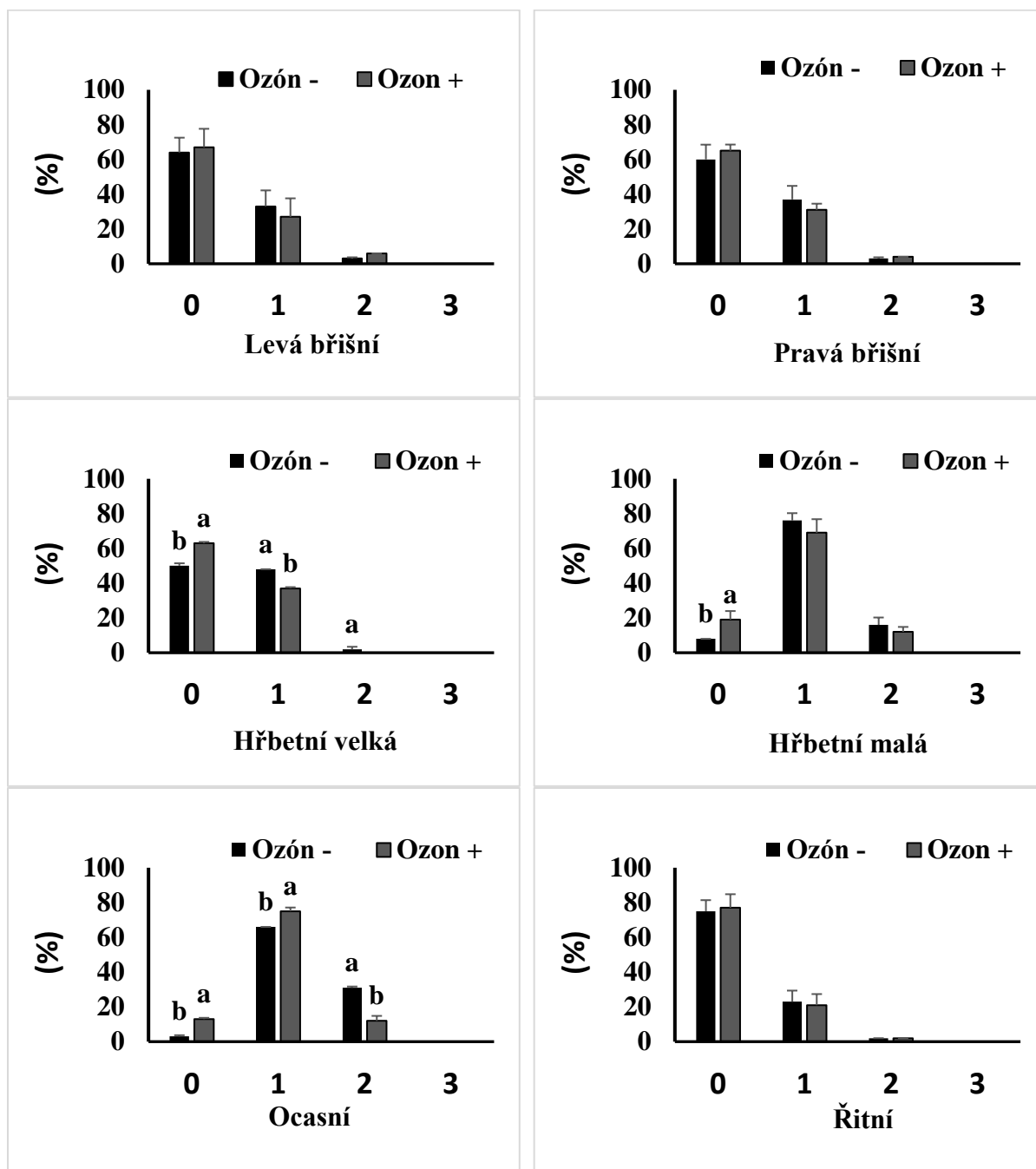
4.8 Posouzení stavu a poškození ploutví

Detailní zpracované a vyhodnocené výsledky týkající se stupně poškození ploutví u obou odchovávaných druhů ryb v závislosti na použité či nepoužité ozonizaci vody v RAS jsou sumarizovány v Grafech 6 a 7.

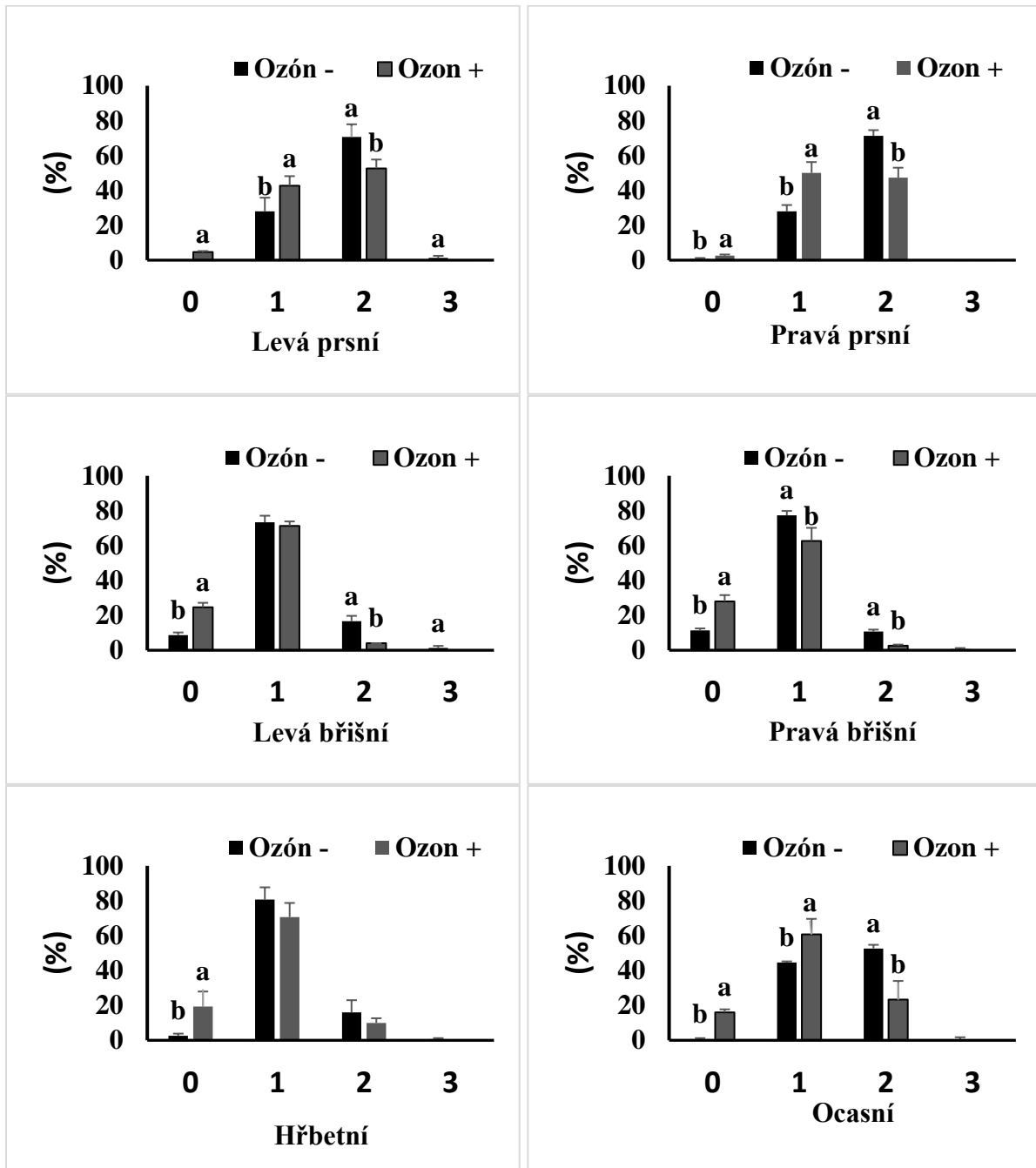
U candáta obecného ve skupině s ozonizovanou a neozonizovanou vodou byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi stupněm poškození pravé a levé prsní, velké hřbetní a ocasní ploutve. U ryb bez ozonizace vody u prsních ploutví bylo zjištěno vyšší zastoupení vyššího stupně poškození (1. stupeň – 55 - 65 % a 2. stupeň – 18 - 20 %) oproti skupině ryb s ozonizací vody (1. stupeň – 38 – 42 % a 2. stupeň – 8 – 10 %). Stejný trend byl zjištěn u stupně poškození velké hřbetní ploutve, kdy u skupiny candátů bez ozonizace vody byl zjištěn 1. stupeň poškození u 50 % ryb oproti stejnému poškození stejné ploutve u 38 % ryb candáta obecného s ozonizací vody. Nejvíce u candáta obecného byla poškozena ocasní ploutev, kdy bylo dosaženo dokonce 2. stupně poškození. Tento stupeň poškození byl u ryb candáta obecného bez ozonizace vody zaznamenán u 27 % ryb a u ryb s ozonizací jen u 16 %. První stupeň poškození ocasní ploutve byl u candáta obecného s ozonizací vody potvrzen u 76 % ryb a u skupiny bez ozonizace vody u 67 % ryb. Ostatní ploutve byly poškozeny velmi podobným způsobem bez statistických rozdílů mezi testovanými skupinami.

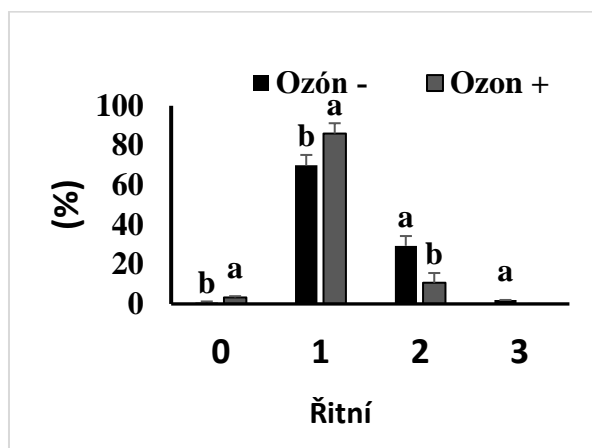
Obecně u sumce velkého byly všechny ploutve více postižené různým stupněm poškození, který byl různě statisticky průkazný mezi testovanými skupinami (sumec s ozonizací vody a bez ní). U všech ploutví byl zaznamenán druhý stupeň poškození ploutví. Jeho procentuální výskyt byl vždy statisticky vyšší u skupiny bez ozonizace vody v RAS oproti skupině s ozonizací vody. Nejvíce poškozenými ploutvemi byly ploutve prsní (2. stupeň – 70 – 75 % u skupiny sumec ozón – a 50 – 55 % u skupiny sumec ozón + a 1. stupeň – 45 – 50 % sumec ozón + a 25 – 30 % sumec ozón-) a ocasní (2. stupeň – 53 % u skupiny sumec ozón – a 24 % u skupiny sumec ozón + a 1. stupeň - 62 % u skupiny sumec ozón + a 43 % u skupiny sumec ozón -). Nejméně byly poškozeny ploutve břišní, hřbetní a řitní, kdy vyšší stupeň poškození těchto ploutví byl vždy sledován u skupiny sumec ozón -.





Graf 6: Posouzení stavu a poškození všech ploutví u odchovávaného candáta obecného na konci 231 denního odchovu mezi testovanými skupinami (candát ozón + a ozón -). Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p < 0,05$). 0 – minimální rozpad ploutví, (< 5 % poškození ploutve), 1 – malý rozpad ploutve (>5 % poškození < 30 %), 2 - střední rozpad ploutve (>30 % poškození < 70 %) a 3 - úplný rozpad ploutve (poškození > 70 %).

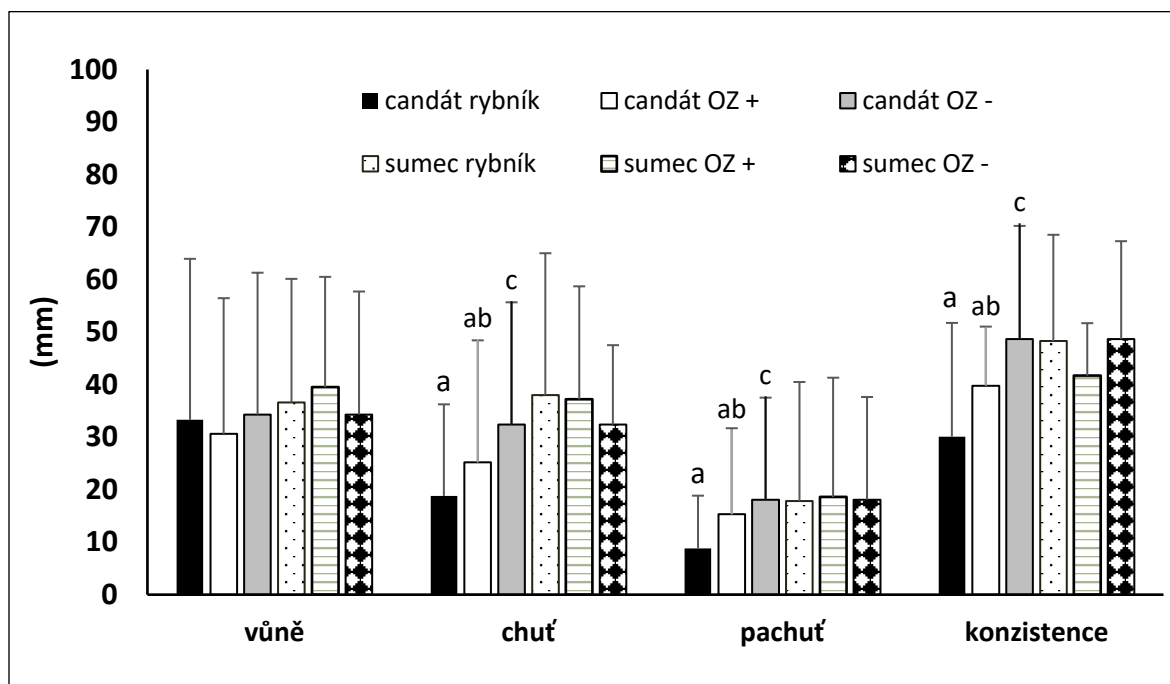




Graf 7: Posouzení stavu a poškození všech ploutví u odchovávaného sumce velkého na konci 231 denního odchovu mezi testovanými skupinami (sumec ozón + a ozón -). Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p < 0,05$). 0 – minimální rozpad ploutví, (< 5 % poškození ploutve), 1 – malý rozpad ploutve (>5 % poškození < 30 %), 2 - střední rozpad ploutve (>30 % poškození < 70 %) a 3 - úplný rozpad ploutve (poškození > 70 %).

4.9 Výsledky senzorické analýzy svaloviny odchovaných candátů obecných a sumců velkých na konci 231 denního experimentálního odchovu

V senzorickém profilu masa candátů původem z rybníčních, ozonizovaných a neozonizovaných vod byly shledány významné rozdíly. Z analýzy dat získaných na nestrukturované grafické stupnici vyplývá, že chuť masa byla nejpříznivěji hodnocena ve skupině extenzivně chovaných ryb v rybníčních podmínkách a u ryb chovaných v ozonizované vodě (Graf 8). Pachuť masa candátů byla nejméně identifikována ve skupině candátů odchovávaných v rybnících. Následovali candáti chovaní v ozonizované vodě. Rovněž parametr konzistence vykazoval významný rozdíl v porovnávaných skupinách candáta obecného se stejnými rozdíly mezi skupinami jako u chuti a pachuti. Žádné rozdíly mezi skupinami u candáta obecného nebyly zaznamenány pro vůni masa. U odchovaných sumců velkých nebyly nalezeny mezi jednotlivými skupinami u všech hodnocených parametrů statistické rozdíly. Tento fakt byl pravděpodobně způsoben typickou a poměrně silnou vůní, chutí a konzistencí masa sumce velkého, kdy druhová charakteristika těchto parametrů totálně vymazala vliv testovaných skupin (sumec ozón+ a sumec ozón -; Graf 8).



Graf 8: Sensorická analýza profilu masa odchovaných ryb candáta obecného a sumce velkého pocházejících s rybníčních podmínek a z RAS s ozonizovanou a neozonizovanou vodou. Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ($p < 0,05$).

4.10 Stanovení a vyhodnocení SSI, HSI a VSI

Výsledky procentních hmotnostních podílů sleziny (SSI = Spleen Somatic Index), jater (HSI = Hepato Somatic Index) a tělního tuku (VSI = Viscero Somatic Index) jsou uvedeny v Tab. 7. Z tabulky je patrné, že byly nalezeny větší sleziny u ozonizovaných candátů oproti candátům pocházejících z neozonizované vody. Naopak u candátů pocházejících z ozonizované vody byla zjištěna větší játra. U obou skupin sumce velkého byly játra i sleziny stejně velké. U tělního tuku byly zaznamenány rozdíly u sumce, kde v ozonizované vodě byl hmotností podíl tělního tuku 1,8 krát větší než u sumce chovaného ve vodě neozonizované. Podíl tělního tuku u odchovaných candátů byl stejný mezi oběma skupinami a obecně byl na vysoké úrovni, kdy je možné konstatovat, že odchovaní candáti v obou skupinách měli obecně problém s metabolismem tuků, což negativně ovlivňovalo funkci sleziny a jater u obou skupin bez ohledu na ošetření ozónem.

Tab 7. Souhrnné výsledky týkající se stanovení a vyhodnocení SSI, HSI a VSI u odchovaných candátů obecných a sumců velkých na konci 231 denního odchovu.

| | SSI (%) | HSI (%) | VSI (%) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| candát ozon - | 0,04 ± 0,05 ^b | 1,77 ± 0,27 ^a | 5,62 ± 1,65 ^a |
| candát ozón + | 0,09 ± 0,03 ^a | 1,34 ± 0,31 ^b | 5,66 ± 1,28 ^a |
| sumec ozón - | 0,07 ± 0,02 ^a | 1,43 ± 0,46 ^a | 1,65 ± 0,5 ^b |
| sumec ozón + | 0,07 ± 0,02 ^a | 1,59 ± 0,19 ^a | 2,95 ± 0,7 ^a |



4.11 Výsledky makroskopického vyšetřování v rámci sledování zdravotního stavu a welfare ryb

Během jednotlivých vyšetřování zdravotního stavu a welfare odchovávaných ryb obou druhů a skupin ryb bylo z makroskopických patologických nálezů diagnostikováno poškození jater (ve smyslu tukové degenerace jaterní tkáně), které je sumarizováno v Tab. 8 a 9. Na začátku experimentu do 56. dne odchovu u candáta obecného a do 84. dne odchovu u sumce velkého byly identifikovány jen první dva stupně poškození jater u obou experimentálních skupin. Později při odchovu byly identifikovány i další dva stupně poškození jater (3. a 4. stupeň) jak u candáta obecného (s procentuální frekvencí 41,7 a 16,7 % u skupiny pocházející z RAS s ozonizovanou vodou a 65,0 a 0 % z RAS bez ozonizované vody), tak i sumce velkého (s procentuální frekvencí 20,0 a 0 % u skupiny pocházející z RAS s ozonizovanou vodou a 20,0 a 3,3 % z RAS bez ozonizované vody). Obecně se tendence výskytu poškození jater tukovou degenerací zvyšovala s časem a nevykazovala rozdíly mezi testovanými skupinami v rámci každého druhu. Obecně stupeň poškození jater byl nižší u odchovaného sumce velkého než u odchovaného candáta obecného. Předpokládáme, že tento patologický jev především u candáta obecného úzce souvisí s nevhodným složením předkládaného krmiva. Všechny 3 typy předkládaného krmiva (viz. kapitola 3.3 této zprávy; Tab. 2) obsahovaly vysoké procento tuku (20-22 %) a vysoký obsah stravitelné energie (18,4-19,6 MJ). S nevhodným složením předkládaného krmiva také úzce souvisely opakované nálezy tělního tuku v dutině břišní u většiny vyšetřených ryb obou druhů a skupin ryb v průběhu celého testu bez ohledu na použitou či nepoužitou ozonizaci vody v RAS.

Během vyšetřování byly poměrně často u candáta obecného zaznamenány nálezy poškozených očí (exoftalmus, endoftalmus, úplný zákal či zcela chybějící oční bulbus). Chybějící oční bulbus byl pravděpodobně následkem vykousnutí očního blbu jinou rybou během kritického období adaptace candátů na suché krmivo. Ostatní patologické změny na očích pravděpodobně souvisí s použitím ozonizace vody v RAS, vzhledem k jejich častějším nálezům ve skupině candátů chované v RAS s ozonizovanou vodou.

V rámci parazitologického mikroskopického vyšetření byly opakovaně zaznamenány změny na žábrech sumců velkých (stejně u skupiny pocházející z vody ošetřené ozónem i bez ozónu) ve smyslu dilatace žaberních lístků, z tohoto důvodu bylo realizováno histologické vyšetření žaber odchovaných obou druhů a skupin ryb na konci 231 denního experimentálního odchovu.



Tab. 8: Sumarizované výsledky z identifikovaného makroskopického patologického poškození jater u odchovaného candáta obecného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody.

| Datum odběru ↓ | Experimentální skupiny | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|-------------|-------------|----------|
| | candát obecný Oz+ | | | | candát obecný Oz- | | | |
| Stupeň poškození jater → | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1. den odchovu | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 28. den odchovu | 66,6 | 33,3 | 0 | 0 | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 |
| 56. den odchovu | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| 84. den odchovu | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 112. den odchovu | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 33,3 | 66,6 | 0 |
| 140. den odchovu | 0 | 33,3 | 0 | 66,6 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 168. den odchovu | 33,3 | 0 | 66,6 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 196. den odchovu | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 224. den odchovu | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 231. den odchovu | 50 | 0 | 50 | 0 | 16,6 | 0 | 83,4 | 0 |
| Průměr | 18,3 | 23,3 | 41,7 | 16,7 | 15,0 | 20,0 | 65,0 | 0 |
| Směrodatná odchylka | 24,1 | 33,5 | 44,3 | 34,2 | 30,3 | 34,0 | 43,8 | 0 |

Tab. 9: Sumarizované výsledky z identifikovaného makroskopického patologického poškození jater u odchovaného sumce velkého v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody.

| Datum odběru ↓ | Experimentální skupiny | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|-------------|-------------|----------|-----------------|-------------|-------------|-------------|
| | sumec velký Oz+ | | | | sumec velký Oz- | | | |
| Stupeň poškození jater → | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1. den odchovu | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 |
| 28. den odchovu | 66,6 | 33,3 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 56. den odchovu | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| 84. den odchovu | 100 | 0 | 0 | 0 | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 |
| 112. den odchovu | 66,6 | 33,3 | 0 | 0 | 66,6 | 33,3 | 0 | 0 |
| 140. den odchovu | 0 | 100 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 168. den odchovu | 0 | 100 | 0 | 0 | 33,3 | 33,3 | 0 | 33,3 |
| 196. den odchovu | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 224. den odchovu | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 231. den odchovu | 33,3 | 66,6 | 0 | 0 | 50 | 50 | 0 | 0 |
| Průměr | 30,0 | 50,0 | 20,0 | 0 | 41,7 | 35,0 | 20,0 | 3,3 |
| Směrodatná odchylka | 34,8 | 40,1 | 40,0 | 0 | 36,0 | 33,7 | 40,0 | 10,0 |

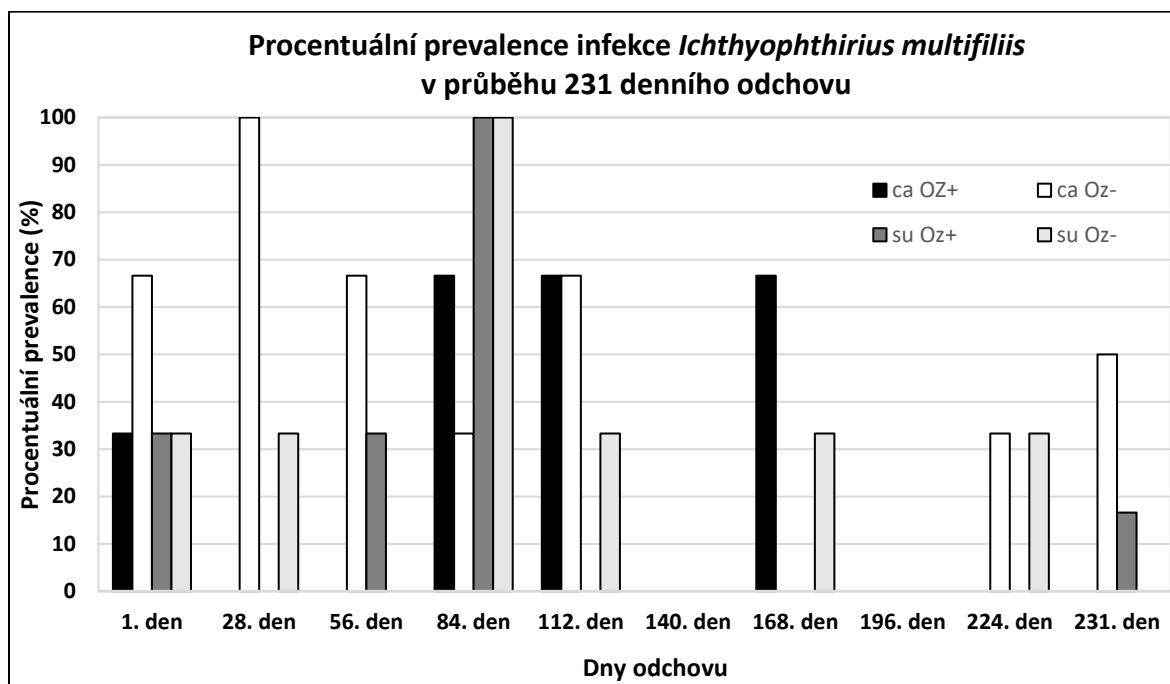


4.12 Výsledky parazitologického vyšetření

V průběhu 231 denního intenzivního odchovu candátů obecných a sumců velkých v RAS byl opakovaně zaznamenán nález parazitického prvoka kožovce rybího (*Ichthyophthirius multifiliis*) na kůži i žábách ryb ve velmi nízkých intenzitách (ojedinele až slabě) a v prevalenci nejčastěji u 33,3 – 66,6 % odchovávaných ryb (Graf 9). Za celý odchov byla zjištěna průměrná nižší prevalence výskytu tohoto prvoka ($23,3 \pm 30,0$ %) u skupiny candát ozón+ oproti skupině candátů, kteří pocházeli z vody bez ošetření ozónem ($41,6 \pm 34,5$ %). Intenzita napadení ryb daným prvokem byla v obou skupinách stejná (výskyt kožovce rybího v ojedinelých až slabých koncentracích). U obou skupin sumců velkých byla zjištěna stejná intenzita napadení ryb kožovcem rybím, jako tomu bylo u candáta velkého. Obecně u sumce byla zjištěna nižší prevalence výskytu kožovce oproti candátovi obecnému. Průměrná prevalence výskytu kožovce u sumců velkých odchovávaných v RAS s ozonizací vody byla velmi nízká ($18,3 \pm 31,9$ %) oproti sumcům odchovávaných v RAS bez ozonizace vody ($26,7 \pm 30,1$ %). Z důvodu výskytu kožovce rybího v daných intenzivních chovech ryb bylo nutné u všech testovaných skupin ryb přistoupit pětkrát k aplikaci dlouhodobé léčebné koupele ve formaldehydu (viz kapitola 3.4 této zprávy) v dávce 1,5 ml na 100 litrů vody, která zajistila chov bez výrazných masových úhynů ryb.

Vedle výskytu kožovce rybího byl také jedenkrát (168. den odchovu) v obou systémech RAS FROV JU (s ozonizací a bez ozonizace vody) zjištěn výskyt parazita *Trichodina* sp. ve středně silné až silné intenzitě s prevalencí u 33,3 % ryb ve skupině candát Oz- a u 100 % ryb ve skupinách candát Oz+ a sumec Oz+. U sumce pocházejícího z vody RAS neošetřovaného ozónem nebyla zjištěna žádná infekce tímto parazitem. Po zjištění dané nákazy byla se 100 % účinností použita dlouhodobá koupel obou RAS (Oz+ i Oz-) v kuchyňské soli NaCl (30 kg soli na 30 000 litrů vody tj. 1 g na jeden litr vody) v celém systému Oz+ i Oz-. Sůl byla celkově za celou dobu experimentu použita k dlouhodobým koupelím u obou skupin testovaných ryb (Oz+ i Oz-) celkem šestkrát (jedenkrát z důvodu výskytu *Trichodina* sp. a pětkrát z důvodu prevence ryb před jejich zaplísněním po přelovení a manipulaci).

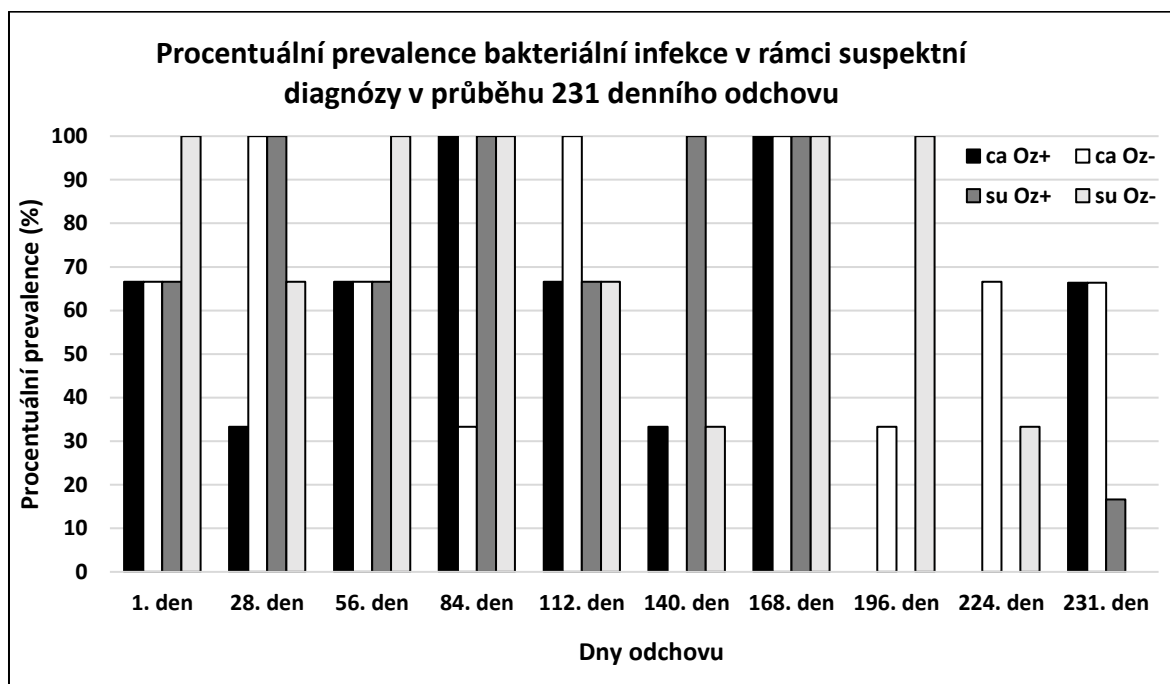
Obecně lze konstatovat, že ozonizace vody v RAS při intenzivním chovu candáta obecného a sumce velkého nezabrání výskytu infekce kožovce, ale může mít pozitivní vliv na snížení prevalence této infekce. Na výskyt infekce parazita *Trichodina* sp. ozonizace vody žádný vliv neměla.



Graf 9: Procentuální prevalence infekce *Ichthyophthirius multifiliis* u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých obou testovaných skupin v průběhu 231 denního odchovu.

4.13 Suspektní bakteriologické vyšetření

Průběh bakteriální infekce obou druhů ryb a skupin, která byla sledována suspektní diagnózou, je detailně znázorněn v Grafu 10. Ve většině případech, kdy byla zjištěna bakteriální infekce ryb, se jednalo o slabé či středně silné napadení ryb. Za celý experiment byla nejnižší prevalence bakteriální infekce zjištěna u candáta pocházejícího z RAS s vodou ošetřenou ozónem ($53,3 \pm 35,8$ %) a následovaného candátem chovaného v RAS s vodou neošetřenou ozónem ($63,3 \pm 33,2$ %). Vyšší prevalence bakteriální infekce byla zjištěna u sumce velkého $61,6 \pm 41,6$ % (u skupiny pocházející z RAS s vodou ošetřenou ozónem) a nejvyšší prevalence $70,0 \pm 36,7$ % (u sumce velkého chovaného v RAS bez ozonizace vody). Velmi podobné výsledky byly získány z hlediska frekvence 100 % prevalence bakteriální infekce u odchovávaných ryb obou druhů a skupin testovaných ryb, kdy nejvyšší frekvence 100 % prevalence byla zjištěna u sumce velkého bez ozonizované vody (5 krát za celý odchov) a následně u sumce velkého chovaného v RAS s ozonizovanou vodou (4 krát). U candáta obecného byla 100 % prevalence bakteriální infekce zjištěna třikrát u skupiny neošetřované ozónem a u skupiny ošetřené ozónem jen dvakrát. Bezsporně výskyt bakteriální infekce v průběhu celého experimentu byl ovlivněn použitím krátkodobé preventivní koupele přípravkem Chloramin, který byl u obou skupin a druhů ryb použit jednotně 11 krát v 28 denních intervalech. Realizace těchto koupelí byla provozně nezbytná a zabraňovala masovému úhynu odchovávaných ryb vlivem vyšší intenzity bakteriálních infekcí, které by se v chovu ryb vyskytovaly bez těchto preventivních koupelí.

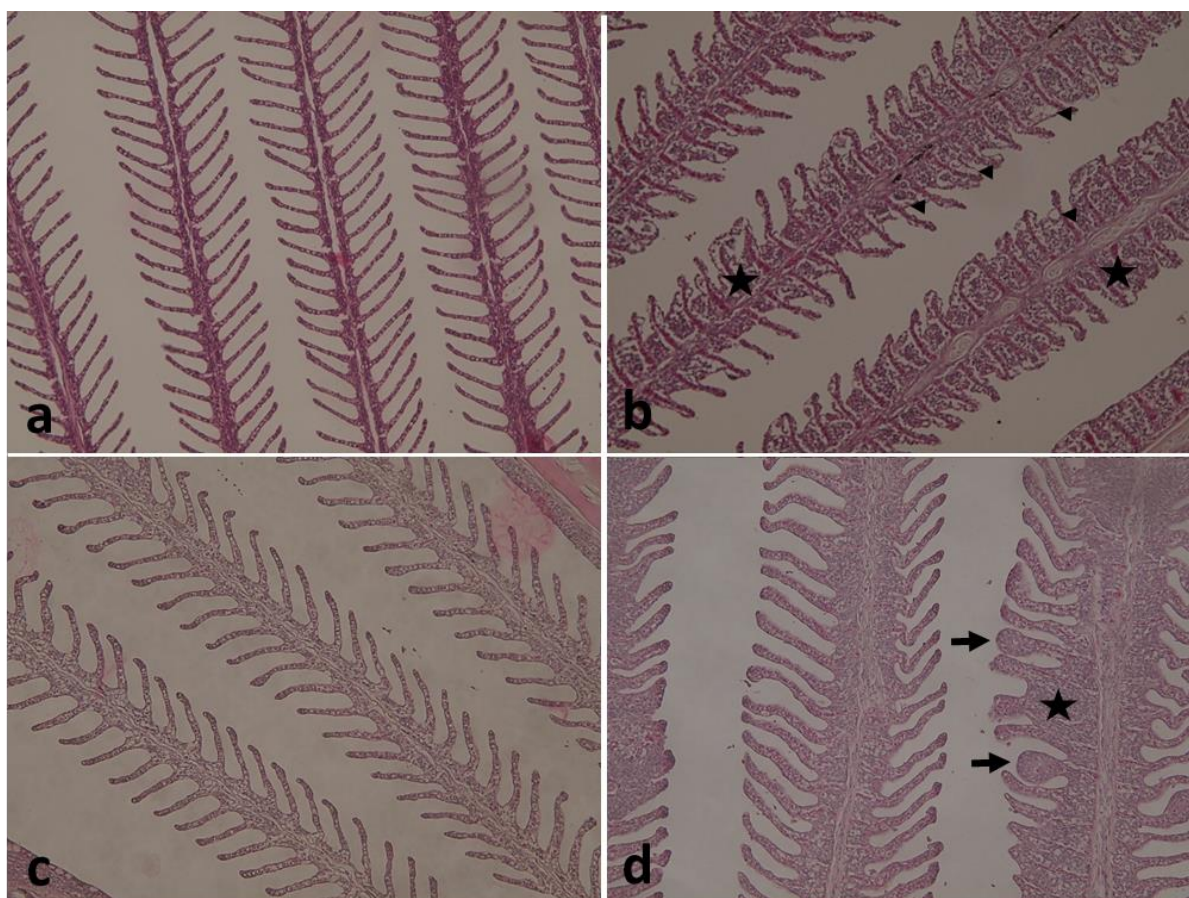


Graf 10: Procentuální prevalence bakteriální infekce v rámci suspektní diagnózy u odchovaných candátů obecných a sumců velkých obou testovaných skupin v průběhu 231 denního odchovu.

4.14 Histologické vyšetření žaber odchovaných ryb

4.14.1 Histologické změny na žábách u candátů obecných

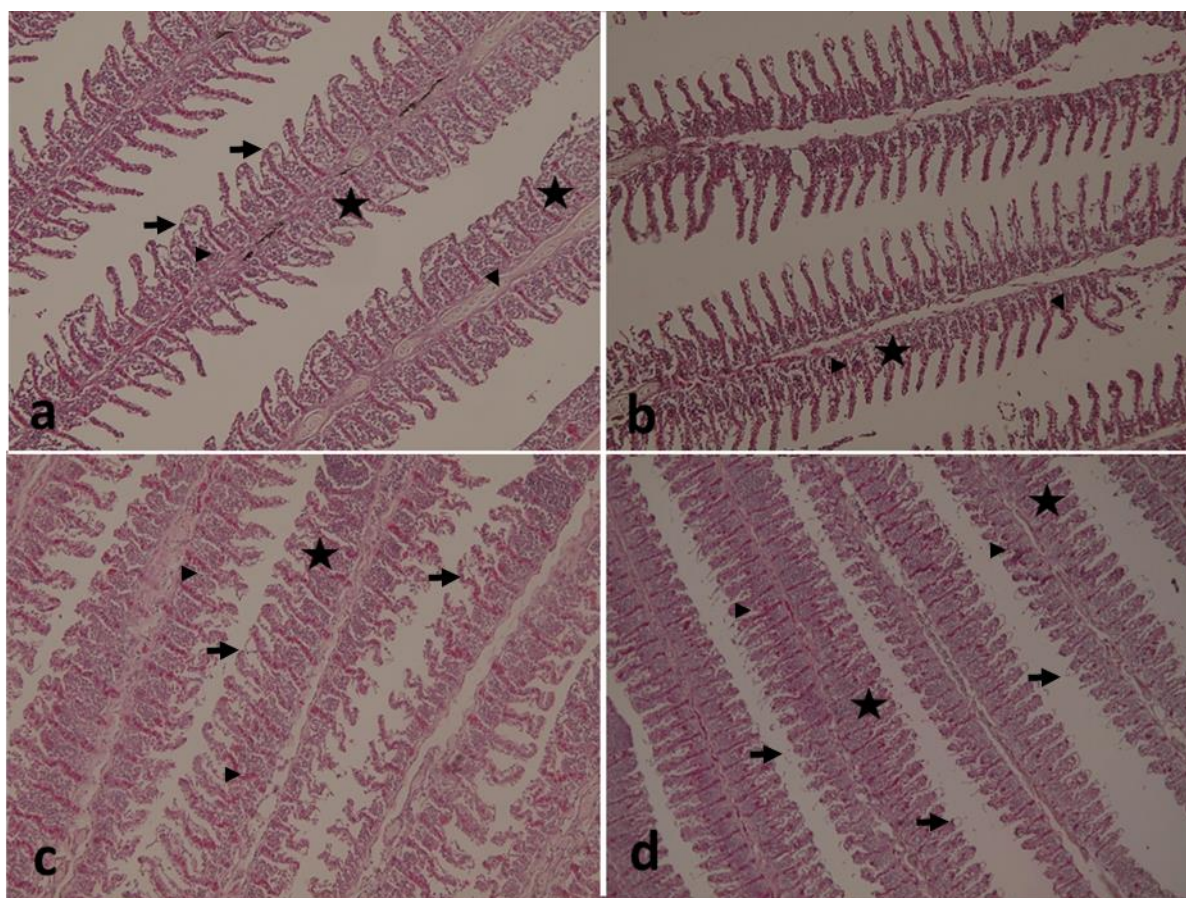
Na začátku experimentu u kontrolní skupiny candátů obecných chovaných ve vodě bez ošetření ozónem nebyly zaznamenány jakékoliv patologické změny (Obr. 1a). Ve stejné době u skupiny candátů chovaných ve vodě ošetřované ozónem vykazoval žaberní epitel větší hyperplazické změny, které měly za následek částečné slepení žaberních lamel s mírným zvednutím epitelu (Obr. 1b). Po 231 denním odchovu a následném sledování byly žábry candátů kontrolní skupiny minimálně hypertrofické, s nepatrnými známkami vakuolizace epiteliálních buněk a žábry vykazovaly normální stav (Obr.1c). Ovšem candáti chovaní v RAS s ozonizovanou vodou vykazovali výraznější změny na žábách. Zaznamenána byla hypertrofie vedoucí k spojení žaberních lamel s okolím v distální části. Dále byla zjištěna hyperemie epiteliálních buněk (Obr. 1d).



Obr. 1: Žaberní tkáň odchovávaných candátů obecných: a = kontrolní skupina odchovávaná v RAS bez ozonizace vody na začátku testu bez jakýchkoliv patologických změn; b= skupina chovaná v RAS s ozonizovanou vodou na začátku experimentu s hyperplazickými změnami, které měly za následek částečné slepení žaberních lamel s mírným zvednutím epitelu (hvězdička); c= kontrolní skupina po 231 denním odchovu testu bez významných patologických změn; d= skupina chovaná v ozonizované vodě po 231 denním odchovu s hypertrofickými změnami (hvězdička), se spojením lamel a zvednutím epitelu (šipka).

4.14.2 Histologické změny na žábřích u sumců velkých.

U obou sledovaných skupin sumců velkých (sumec ozón+ a sumec ozón -), viz Obr. 2 a – d, byla zaznamenána hypertrofie žaberního epitelu s jeho částečným slepením a hyperemií s petechiálními krváceninami. Žaberní epitel byl mírně až středně silně zvednutý a byly v něm zaznamenány ruptury. Obecně se patologické změny na žábřech zhoršovaly a gradovaly směrem ke konci odchovu u obou testovaných skupin (sumec ozón + a sumec ozón -). Sledované patologické změny na žábřech odchovaných sumců byly pravděpodobně především způsobeny vyšší intenzitou a prevalencí výskytu bakteriálních onemocnění odchovávaných ryb v porovnání s vlivem ozonizace či nevyužití ozonizace vody v RAS na tento sledovaný problém.



Obr. 2: Žaberní tkáň odchovávaných sumců velkých: a = kontrolní skupina chovaná v RAS bez ozonizace vody na začátku experimentu; b= skupina sumců velkých chovaná v RAS s ozonizovanou vodou na začátku experimentu; c= kontrolní skupina chovaná v RAS bez ozonizace vody po 231 denním odchovu a d= skupina sumců velkých odchovávaných v RAS s ozonizovanou vodou po 231 denním odchovu.

4.15. Stanovení biochemického profilu krve odchovávaných candátů obecných a sumců velkých

Vzhledem k opakovaným makroskopickým nálezům poškozených jater u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých bylo na konci 231 denního dochovu provedeno stanovení vybraných parametrů biochemického profilu krve, které charakterizují stresový a fyziologický stav odchovávaných ryb. Výsledky analýz obou druhů a skupin jsou sumarizovány v Tab. 10 a získané hodnoty byly porovnány s běžně publikovanými hodnotami. U žádného parametru nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi testovanými skupinami jednotlivých druhů ryb tzn. mezi candátem a sumcem chovaných v RAS s vodou ošetřenou či neošetřenou ozónem.

Obecně byly zaznamenány vyšší koncentrace kortizolu u odchovávaných candátů obecných ($124,5 - 151,8 \text{ ng.ml}^{-1}$) oproti koncentracím kortizolu u odchovávaného sumce velkého ($73,0 - 80,2 \text{ ng.ml}^{-1}$). Tyto výsledky ukazují na daleko vyšší stres vyskytující se u intenzivně chovaných



candátů obecných oproti sumcům velkým, kteří snášejí stresové podmínky intenzivní akvakultury daleko lépe než odchovávaní candáti obecní.

Vyšší koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) u obou skupin odchovaných candátů obecně indikovaly zhoršenou funkci jaterních enzymů, která zhoršuje membránový transport, metabolismus glykogenu a syntézu proteinů. Avšak tento jev byl pravděpodobně způsoben především zmíněnou nekvalitní výživou candátů a vyšší stupněm poškození jejich jater.

Koncentrace ostatních sledovaných parametrů (albuminů (ALB), alkalické fosfatázy (ALP), alanin aminotransferázy (ALT), aspartát aminotransferázy (AST), celkových bílkovin (TP), amoniaku (NH₃), laktát dehydrogenázy (LDH) a laktátu) u obou druhů ryb i obou způsobů ošetření vody v RAS (bez ozónu a s ozónem) byly stanoveny v běžných hodnotách a nevykazovaly žádné odchylky od normálu. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že na konci odchovu z hlediska biochemického profilu krve byly produkovány ryby, které nebyly nijakým způsobem negativně ovlivňovány ze strany použité či nepoužité ozonizace vody v RAS.

Tab. 10: Biochemický profil krve odchovaných candátů obecných a sumců velkých po 231 denním odchovu porovnaný s běžnými biochemickými hodnotami rybničně odchovávaných stejných druhů ryb publikované Kolářovou a Velíškem (2012).

| | Candát | | | Sumec | | |
|---|---------------------------|---------------|----------------|---------------------------|---------------|---------------|
| | Běžné publikované hodnoty | Oz- | Oz+ | Běžné publikované hodnoty | Oz- | Oz+ |
| kortizol (ng.ml ⁻¹) | neuveдено | 124,5 ± 55,29 | 151,8 ± 74,50 | neuveдено | 73,0 ± 22,23 | 80,2 ± 25,14 |
| ALB (g.l ⁻¹) | 1,0-8,0 | 3,0 ± 1,10 | 3,5 ± 1,38 | 1,0-8,0 | 3,7 ± 0,94 | 3,7 ± 0,81 |
| ALP (μkat.l ⁻¹) | 0,60-1,20 | 1,4 ± 0,40 | 1,3 ± 0,65 | 0,10-0,40 | 0,36 ± 0,12 | 0,3 ± 0,20 |
| ALT (μkat.l ⁻¹) | 0,08-1,43 | 0,2 ± 0,07 | 0,2 ± 0,14 | 0,10-0,40 | 0,3 ± 0,09 | 0,2 ± 0,08 |
| AST (μkat.l ⁻¹) | 0,50-4,0 | 3,0 ± 1,10 | 3,9 ± 1,45 | 4,0-8,0 | 4,5 ± 1,01 | 5,8 ± 1,74 |
| TP (g.l ⁻¹) | 23-50 | 36,5 ± 4,32 | 39,0 ± 2,61 | 30-40 | 25,8 ± 0,69 | 26,3 ± 1,63 |
| NH ₃ (μmol.l ⁻¹) | 330-960 | 931,0 ± 55,81 | 872,5 ± 191,57 | 330-960 | 285,0 ± 44,47 | 288,2 ± 93,96 |
| LDH (μkat.l ⁻¹) | 16-25 | 19,6 ± 2,07 | 20,5 ± 1,55 | 4,5-13,6 | 6,2 ± 1,87 | 5,96 ± 1,77 |
| LACT (mmol.l ⁻¹) | 1,90-5,90 | 3,5 ± 0,85 | 4,0 ± 0,48 | neuveдено | 1,5 ± 0,53 | 1,7 ± 0,69 |

4.15 Stanovení úrovně oxidativního stresu

Detailní výsledky týkající se úrovně oxidativního stresu a výskytu antioxidantních enzymů u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých jsou uvedeny v Tab. 11 a 12. U odchovávaných candátů byly zjištěny jen dva rozdíly v rámci těchto analýz mezi oběma testovanými skupinami. První rozdíl se týkal vyššího oxidativního stresu (vyšší hodnoty TBARS a vyšší aktivity lipidní peroxidace) u žaber candátů chovaných na začátku odchovu (až do 35. dne odchovu) v RAS bez ošetřené vody ozónem oproti candátům chovaným v RAS s ošetřenou vodou ozónem. Ovšem tento rozdíl nebyl na konci odchovu potvrzen a byl pravděpodobně v průběhu odchovu potlačen. Druhým zjištěným rozdílem v rámci těchto analýz mezi



sledovanými skupinami candátů bylo zjištění vyššího výskytu antioxidantního enzymu SOD (superoxidní dismutázy) 14. den experimentu u žaber candátů vyskytujících se v RAS s ošetřovanou vodou ozónem. Tyto rozdíly už nebyly v dalších analýzách nijak potvrzeny. Obecně lze konstatovat, že v intenzivním chovu candáta jsou nejvíce negativně oxidativním stresem postiženy žábry ryb a ošetření vody ozónem v RAS může tento problém částečně eliminovat. Ovšem pro výrazné zlepšení fyziologického stavu intenzivně chovaných candátů bude potřeba více optimalizovat umělou potravu intenzivně chovaných ryb.

V průběhu experimentu byly u intenzivně chovaných sumců velkých pozorované výraznější změny týkající se výskytu antioxidantních enzymů mezi oběma testovanými skupinami než tomu tak bylo u candátů obecných. Naopak žádné rozdíly mezi skupinami u tohoto druhu nebyly zjištěny u úrovně oxidativního stresu, který byl charakterizovaný hodnotou TBARS. U jater ryb v rámci skupiny odchovávaných sumců velkých v RAS s ozonizací vody byla na začátku a na konci odchovu zjištěna vyšší hladina SOD a na konci odchovu nižší hodnota CAT oproti skupině chované v RAS bez ozonizace vody. U žaber ryb sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací vody byly zjištěny nižší hodnoty SOD na začátku odchovu a vyšší hodnoty CAT na konci odchovu oproti skupině sumce velkého chovaného v RAS bez ozonizace vody. Obecně zjištěné rozdíly u obou druhů ryb a testovaných skupin byly velmi malé. Lze konstatovat, že ozonizace vody v rámci intenzivního chovu candáta obecného a sumce velkého výrazným způsobem neovlivňuje oxidativní stres a produkci antioxidantních enzymů u obou druhů ryb.

Tab. 11: Úroveň oxidativního stresu a výskyt antioxidantních enzymů při odchovu candáta obecného v průběhu 231 denního intenzivního odchovu v RAS s či bez ozonizované vody.

| Parametr | Tkáň | Doba expozice (dny) | Testovaná skupina | |
|----------|-------|---------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | RAS bez ošetření vody ozónem | RAS s vodou ošetřenou ozónem |
| TBARS | Játra | Začátek experimentu | 0,416 ± 0,05 | 0,416 ± 0,04 |
| | | 14.den | 0,454 ± 0,14 | 0,356 ± 0,05 |
| | | 35.den | 0,438 ± 0,11 | 0,430 ± 0,08 |
| | | Konec experimentu | 0,679 ± 0,14 | 0,709 ± 0,25 |
| | Žábra | Začátek experimentu | 0,611 ± 0,03 | 0,445 ± 0,05** |
| | | 14.den | 0,541 ± 0,03 | 0,328 ± 0,10** |
| | | 35.den | 0,382 ± 0,10 | 0,250 ± 0,02** |
| | | Konec experimentu | 0,431 ± 0,08 | 0,488 ± 0,06 |
| SOD | Játra | Začátek experimentu | 0,365 ± 0,03 | 0,353 ± 0,02 |
| | | 14.den | 0,309 ± 0,05 | 0,311 ± 0,06 |
| | | 35.den | 0,253 ± 0,07 | 0,270 ± 0,08 |
| | | Konec experimentu | 0,291 ± 0,06 | 0,325 ± 0,16 |
| | Žábra | Začátek experimentu | 0,134 ± 0,05 | 0,144 ± 0,02 |
| | | 14.den | 0,152 ± 0,03 | 0,225 ± 0,04* |
| | | 35.den | 0,137 ± 0,05 | 0,183 ± 0,04 |
| | | Konec experimentu | 0,462 ± 0,11 | 0,535 ± 0,14 |
| CAT | Játra | Začátek experimentu | 0,824 ± 0,18 | 0,820 ± 0,05 |
| | | 14.den | 0,744 ± 0,17 | 0,637 ± 0,17 |
| | | 35.den | 0,737 ± 0,34 | 0,783 ± 0,17 |
| | | Konec experimentu | 1,080 ± 0,15 | 1,354 ± 0,41 |



| | | | | | |
|-------|-------|---------------------|---------------------|---------------|---------------|
| GR | Žábra | Začátek experimentu | 0,045 ± 0,01 | 0,032 ± 0,02 | |
| | | 14.den | 0,030 ± 0,01 | 0,029 ± 0,01 | |
| | | 35.den | 0,050 ± 0,03 | 0,025 ± 0,01 | |
| | | Konec experimentu | 0,040 ± 0,02 | 0,056 ± 0,02 | |
| | Játra | Začátek experimentu | 0,078 ± 0,05 | 0,104 ± 0,07 | |
| | | 14.den | 0,078 ± 0,04 | 0,121 ± 0,02 | |
| | | 35.den | 0,210 ± 0,09 | 0,163 ± 0,08 | |
| | | Konec experimentu | 0,148 ± 0,08 | 0,145 ± 0,04 | |
| | Žábra | Začátek experimentu | 0,333 ± 0,09 | 0,330 ± 0,10 | |
| | | 14.den | 0,307 ± 0,05 | 0,420 ± 0,08 | |
| | | 35.den | 0,308 ± 0,07 | 0,350 ± 0,06 | |
| | | Konec experimentu | 0,372 ± 0,03 | 0,499 ± 0,10 | |
| GST | Játra | Začátek experimentu | 1,773 ± 0,49 | 1,922 ± 0,27 | |
| | | 14.den | 1,840 ± 0,58 | 1,429 ± 0,50 | |
| | | 35.den | 2,135 ± 1,28 | 1,966 ± 0,67 | |
| | | Konec experimentu | 2,106 ± 0,65 | 2,628 ± 0,80 | |
| | Žábra | Začátek experimentu | 0,669 ± 0,17 | 0,919 ± 0,15 | |
| | | 14.den | 0,767 ± 0,10 | 1,007 ± 0,12 | |
| | | 35.den | 0,713 ± 0,16 | 0,756 ± 0,18 | |
| | | Konec experimentu | 0,948 ± 0,25 | 1,271 ± 0,27 | |
| | GSH | Játra | Začátek experimentu | 23,889 ± 2,19 | 25,636 ± 3,05 |
| | | | 14.den | 24,541 ± 3,83 | 26,358 ± 4,00 |
| | | | 35.den | 23,489 ± 6,04 | 29,121 ± 1,80 |
| | | | Konec experimentu | 33,645 ± 3,54 | 34,973 ± 4,99 |
| Žábra | | Začátek experimentu | 6,747 ± 0,58 | 7,561 ± 0,92 | |
| | | 14.den | 6,422 ± 0,86 | 6,436 ± 0,85 | |
| | | 35.den | 7,213 ± 1,46 | 7,173 ± 0,44 | |
| | | Konec experimentu | 10,691 ± 1,71 | 10,853 ± 1,38 | |

Data ± SD, n = 10. * a ** znázorňují signifikantní rozdíly mezi skupinami. *p<0,05; **p<0,01.

Tab. 12: Úroveň oxidativního stresu a výskyt antioxidantních enzymů při odchovu sumce velkého v průběhu 231 denního intenzivního odchovu v RAS s či bez ozonizované vody.

| Parametr | Tkáň | Doba expozice (dny) | Testovaná skupina | |
|----------|-------|---------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | RAS bez ošetření vody ozónem | RAS s vodou ošetřenou ozónem |
| TBARS | Játra | Začátek experimentu | 0,295 ± 0,02 | 0,325 ± 0,02 |
| | | 14.den | 0,327 ± 0,09 | 0,292 ± 0,03 |
| | | 35.den | 0,371 ± 0,13 | 0,307 ± 0,01 |
| | | Konec experimentu | 0,416 ± 0,03 | 0,433 ± 0,02 |
| | Žábra | Začátek experimentu | 0,240 ± 0,01 | 0,242 ± 0,02 |
| | | 14.den | 0,228 ± 0,03 | 0,208 ± 0,02 |
| | | 35.den | 0,220 ± 0,03 | 0,222 ± 0,03 |
| | | Konec experimentu | 0,433 ± 0,02 | 0,321 ± 0,02 |



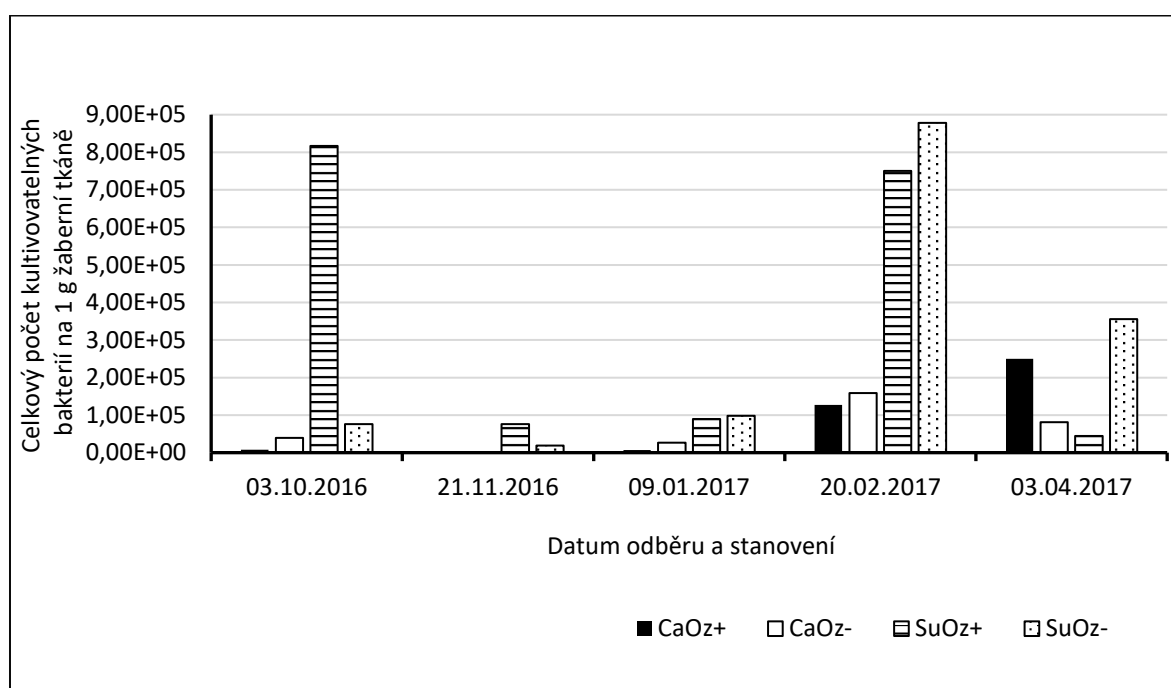
| | | | | | | |
|-----|---|-------|---|---------------------|----------------|----------------|
| SOD | nmol NBT.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Játra | Začátek experimentu | 0,464 ± 0,05 | 0,349 ± 0,04* | |
| | | | 14.den | 0,412 ± 0,06 | 0,436 ± 0,09 | |
| | | | 35.den | 0,395 ± 0,08 | 0,405 ± 0,05 | |
| | | Žábra | nmol NBT.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Konec experimentu | 0,637 ± 0,07 | 0,504 ± 0,09* |
| | | | | Začátek experimentu | 0,449 ± 0,09 | 0,206 ± 0,03** |
| | | | | 14.den | 0,245 ± 0,08 | 0,129 ± 0,08* |
| | | | | 35.den | 0,160 ± 0,06 | 0,088 ± 0,03 |
| | | | | Konec experimentu | 0,208 ± 0,04 | 0,224 ± 0,04 |
| | | | | Začátek experimentu | 0,674 ± 0,05 | 0,672 ± 0,15 |
| CAT | μmol H ₂ O ₂ .min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Játra | 14.den | 0,614 ± 0,12 | 0,591 ± 0,04 | |
| | | | 35.den | 0,525 ± 0,12 | 0,576 ± 0,06 | |
| | | | Konec experimentu | 0,670 ± 0,07 | 0,416 ± 0,08** | |
| | | Žábra | μmol H ₂ O ₂ .min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Začátek experimentu | 0,077 ± 0,02 | 0,099 ± 0,04 |
| | | | | 14.den | 0,072 ± 0,02 | 0,065 ± 0,02 |
| | | | | 35.den | 0,077 ± 0,01 | 0,054 ± 0,01 |
| | | | | Konec experimentu | 0,085 ± 0,02 | 0,143 ± 0,02** |
| | | | | Začátek experimentu | 0,093 ± 0,07 | 0,075 ± 0,04 |
| | | | | 14.den | 0,189 ± 0,13 | 0,092 ± 0,03 |
| GR | nmol NADPH.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Játra | 35.den | 0,088 ± 0,04 | 0,107 ± 0,07 | |
| | | | Konec experimentu | 0,090 ± 0,04 | 0,071 ± 0,03 | |
| | | | Začátek experimentu | 0,066 ± 0,01 | 0,126 ± 0,05 | |
| | | Žábra | nmol NADPH.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | 14.den | 0,073 ± 0,02 | 0,124 ± 0,09 |
| | | | | 35.den | 0,095 ± 0,06 | 0,093 ± 0,07 |
| | | | | Konec experimentu | 0,093 ± 0,05 | 0,087 ± 0,05 |
| | | | | Začátek experimentu | 5,856 ± 0,76 | 6,744 ± 0,97 |
| | | | | 14.den | 5,684 ± 1,38 | 5,684 ± 1,39 |
| | | | | 35.den | 6,847 ± 1,37 | 6,883 ± 0,87 |
| GST | nmol.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | Játra | Konec experimentu | 9,498 ± 1,29 | 10,384 ± 0,71 | |
| | | | Začátek experimentu | 2,598 ± 0,36 | 2,981 ± 0,71 | |
| | | | 14.den | 2,778 ± 0,73 | 2,439 ± 0,56 | |
| | | Žábra | nmol.min ⁻¹ .mg ⁻¹ proteinu | 35.den | 2,831 ± 0,50 | 2,655 ± 0,77 |
| | | | | Konec experimentu | 3,967 ± 0,30 | 3,789 ± 0,22 |
| | | | | Začátek experimentu | 17,544 ± 2,41 | 18,044 ± 3,85 |
| | | | | 14.den | 17,985 ± 3,93 | 14,664 ± 4,75 |
| | | | | 35.den | 17,614 ± 2,91 | 15,321 ± 2,77 |
| | | | | Konec experimentu | 22,209 ± 2,75 | 24,729 ± 2,34 |
| GSH | nmol GSH.mg ⁻¹ proteinu | Játra | Začátek experimentu | 7,275 ± 1,12 | 7,307 ± 1,11 | |
| | | | 14.den | 6,286 ± 1,04 | 5,887 ± 1,24 | |
| | | | 35.den | 5,916 ± 0,90 | 5,906 ± 1,32 | |
| | | Žábra | nmol GSH.mg ⁻¹ proteinu | Konec experimentu | 10,291 ± 0,94 | 10,310 ± 0,61 |

Data ± SD, n = 10. * a ** znázorňují signifikantní rozdíly mezi skupinami. *p<0,05; **p<0,01.



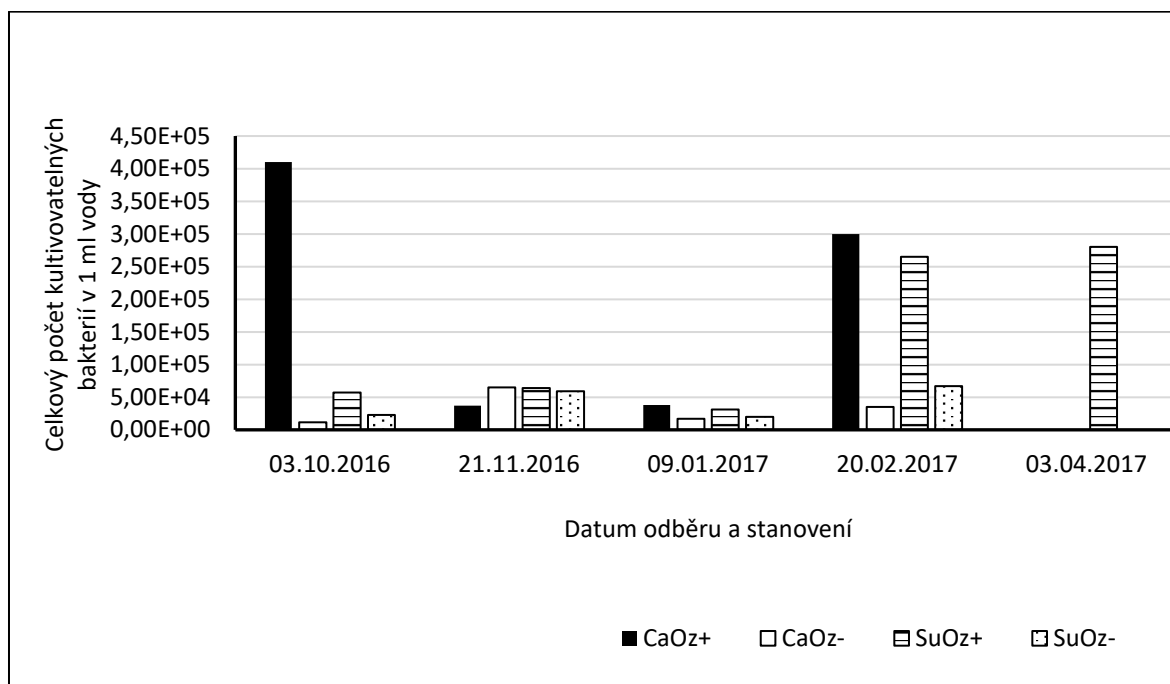
4.16 Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb, vody a biologických filtrů

Laboratorní bakteriologické vyšetření žaber odchovávaných ryb obecně potvrdilo vyšší bakteriální infekci žaber u intenzivně odchovávaných ryb sumce velkého v průběhu odchovu oproti candátovi obecnému, který je na vyšší bakteriální infekci žaber velmi citlivý (Graf. 11). Tyto výsledky potvrdily výsledky suspektního bakteriologického vyšetření odchovávaných ryb. Jak je patrné z Grafu 11, celkový počet kultivovatelných bakterií se u obou druhů v průběhu odchovu významně měnil, což bylo určitě způsobeno aplikací zmíněných různých léčebných procedur, které byly v použitých RAS průběhu odchovu aplikovány.



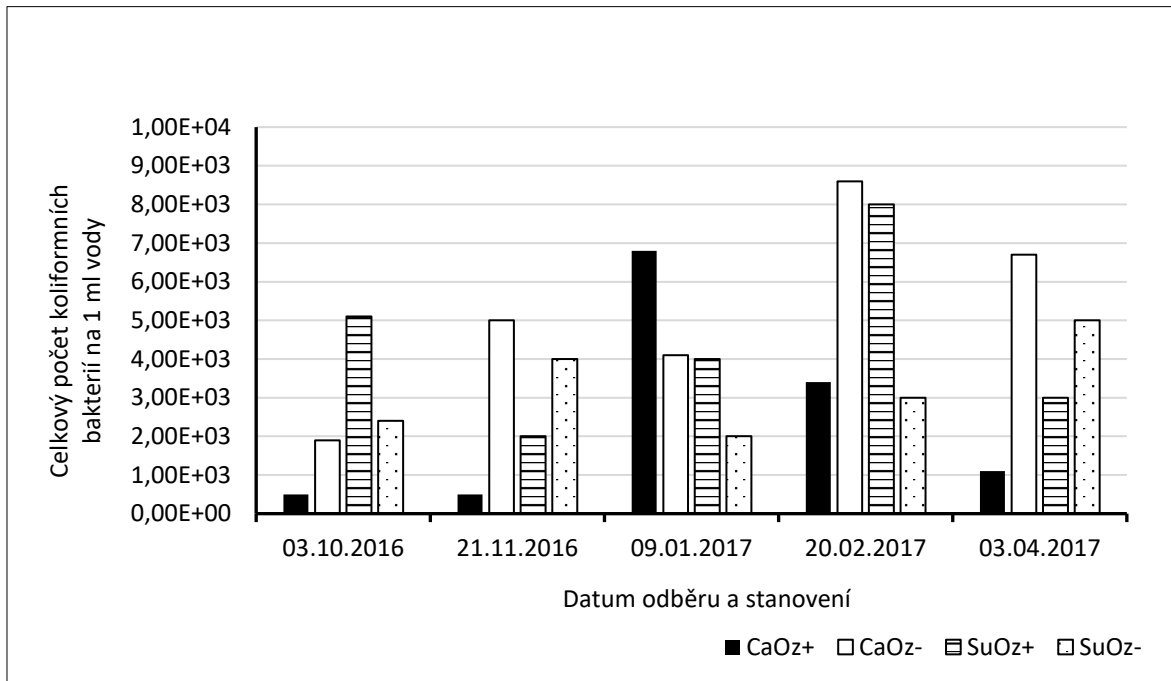
Graf 11: Celkový průměrný počet kultivovatelných bakterií (CPM) na 1 g tkáně žaber odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého v průběhu 231 denního intenzivního odchovu v RAS využívající či nevyužívající ozonizaci vody.

Výsledky bakteriální kontaminace vody, v podobě celkového počtu kultivovatelných bakterií vyskytujících se v odchovných nádržích, jsou poměrně překvapivé (Graf 12), jelikož nejvyšší hodnoty kontaminace byly dosaženy u odchovných nádrží, které byly napojeny na RAS využívající ozonizaci vody. Obecně jsme čekali opačný trend. Jestliže porovnáme dynamiku bakteriální infekce žaber ryb a kontaminace vody v odchovných nádržích je možné u obou Grafů 11 a 12 spatřit velmi podobný nárůst infekce/ kontaminace a následný pokles. I tento parametr bakteriální kontaminace vody byl pravděpodobně podobně ovlivněn léčebnými zákroky v rámci intenzivního chovu candáta obecného a sumce velkého jako tomu bylo u bakteriální kontaminace žaber odchovávaných ryb.



Graf 12: Celkový počet kultivovatelných bakterií (CPM) na 1 ml vody odchovných nádrží v průběhu 231 denního intenzivního odchovu ryb candáta obecného a sumce velkého v RAS využívající či nevyužívající ozonizaci vody.

Detailní výsledky kontaminace vody celkovým počtem koliformních bakterií v odchovných nádržích obou druhů a skupin testovaných ryb jsou uvedeny v Grafu 13. Je zajímavé, že koliformní bakterie plně nekopírovaly dynamiku výskytu celkového počtu kultivovatelných bakterií. Na začátku odchovu byl výskyt koliformních bakterií ve vodě obecně nižší u většiny testovaných druhů a skupin ryb. Postupně s odchovem se počet koliformních bakterií a jejich biomasa zvyšovala, což souviselo s postupnými fekálním a organickým zatížením daných odchovných systémů. Nárůst koliformních bakterií nebyl nijak dramatický, což svědčilo o dobře provozovaných RAS a dobrém chovatelském managementu chovu ryb. U skupin ryb chovaných v RAS s ozonizací vody byly hodnoty kontaminace vody koliformními bakteriemi velmi podobné jako na začátku odchovu a významně nižší než u stejných druhů ryb chovaných v RAS bez ozonizace vody. Tento fakt svědčí o efektivním a pozitivním působení ozonizace na výskyt koliformních bakterií ve vodě odchovných nádrží v intenzivním chovu ryb.



Graf 13: Celkový počet koliformních bakterií (CPM) na 1 ml vody odchovných nádrží v průběhu 231 denního intenzivního odchovu ryb candáta obecného a sumce velkého v RAS využívající či nevyžívající ozonizaci vody.



5 Závěr

Prezentovaný projekt ověřoval možnosti intenzivního chovu candáta obecného a sumce velkého v provozních RAS s využitím či nevyužitím ozonizace vody. Projekt zjistil, že použitý způsob ozonizace vody v produkčních RAS **žádným způsobem neovlivňuje**:

- kusový hmotnostní a délkový růst včetně specifické rychlosti růst u obou testovaných druhů ryb,
- kondici ryb z pohledu stanoveného Fultonova koeficientu a konverzi živin v podobě FCR u obou testovaných druhů ryb,
- stupeň poškození jater u obou druhů ryb,
- úroveň oxidativního stresu a produkci antioxidantních enzymů u obou druhů ryb,
- frekvenci nutně používaných léčebných aplikací do chovného systému u obou druhů proti parazitárním a bakteriálním onemocněním,
- bakteriální infekci žaber u obou druhů ryb,
- bakteriální kontaminaci vody v podobě celkového počet kultivovatelných bakterií na 1 ml vody v odchovných nádržích.

Naopak způsobuje či udržuje:

- vyšší kumulativní přežití candáta obecného v průběhu 231 denního odchovu avšak přežití sumce velkého neovlivňuje žádným způsobem,
- vyšší kvalitu vody v RAS tím, že snižuje hodnoty CHSK_{Mn}, BSK, zákal vody a obsah nerozpuštěných látek ve vodě,
- nižší stupeň poškození ploutví (obou prsních, velké hřbetní a ocasní) u candáta obecného a (obou prsních, břišních, ocasní a řitní) u sumce velkého,
- vysokou sensorickou hodnotu svaloviny odchovaného candáta obecného, avšak neovlivňuje sensorickou hodnotu svaloviny odchovaného sumce velkého,
- vyšší velikost sleziny a menší velikost jater u candáta obecného,
- vyšší podíl tělního tuku v těle sumce velkého,
- nižší prevalenci výskytu parazitární infekce kožovcem rybím u obou druhů,
- nižší prevalenci výskytu bakteriální infekce u obou druhů,
- nižší kontaminaci vody koliformními bakteriemi na 1 ml vody v odchovných nádržích.

U intenzivního chovu candáta obecného a sumce velkého obecně dochází k:

- vyššímu stupni poškození ploutví u sumce velkého oproti candátovi obecnému,
- nižší prevalenci výskytu parazitárního onemocnění kožovcem rybím u sumce velkého v porovnání s candátem obecným,
- vyšší prevalenci výskytu bakteriálních infekcí u sumce velkého v porovnání s candátem obecným,
- vyššímu stresu u odchovávaného candáta obecného v porovnání se sumcem velkým,
- vyššímu stupni poškození jater a výskytu doprovodných biochemických ukazatelů s tím spojených u candáta obecného v porovnání se sumcem velkým.

Doporučení

Obecně díky realizovanému projektu doporučujeme produkčním rybářským podnikům s intenzivním chovem ryb využívat ozonizaci vody v rámci RAS v případech, kdy u nich dochází k vysokému organickému zatížení vody a vysokému zákalu vody z různých důvodů (použité



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

vysoké obsádky ryb, nízký stupeň výměny vody v systému atd.). Ozonizace vody při intenzivním chovu totiž významným způsobem snižuje její organické zatížení a zákal, což se může pozitivně projevit především ve vyšším přežitím více choulostivých druhů ryb (např. candát či okoun) a nižším poškození ploutví u odchovávaných ryb.

Ovšem na tomto místě je důležité zmínit, že ozonizace vody v rámci intenzivní akvakultury není všelékem proti různým onemocněním (parazitární či bakteriální) či fyziologickým poruchám spojených především s výživou (např. tuková degenerace jater, vyšší podíl tělního tuku, vyšší oxidativní stres atd.), které se v daných chovech mohou i přes ozonizaci vody objevit a negativně ovlivnit chovatelské výsledky daného produkčního podniku. Dále je velmi důležité v budoucnosti sledovat vliv ozonizace vody v RAS na případné negativní ovlivnění některých rybích orgánů či tkání jako jsou žábry nebo oči. V průběhu experimentů jsme totiž zjistily náznaky negativního vlivu ozonizace vody na tyto orgány u odchovávaných ryb.

Jelikož šlo o první testování ozonizace vody v rámci produkčního či poloprovozního RAS v ČR, kde s ozonizací vody v intenzivní akvakultuře jsou obecně nízké zkušenosti, je nutné dále tento technologický prvek testovat a ověřovat jeho použití a to především ve vztahu na ekonomiku, kvalitu a rentabilitu produkce ryb v provozních podmínkách českých rybářských podniků.

Ve Vodňanech 30.6.2017

doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

MVDr. Jitka Kolářová

Ing. Jiří Kříšťan, Ph.D.



Přílohy:



Obr. 1: Využívaný generátor ozónu v průběhu realizace projektu.



Obr. 2: Odběr tkání experimentálních ryb na analýzy zdravotního a fyziologického stavu.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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



Obr. 3: Kontrolní přelovení candáta obecného v průběhu projektu na FROV JU.



Obr. 4: Kontrolní přelovení candáta obecného v průběhu projektu na FFB.



Obr. 5: Candát obecný připravený pro biometrické měření.



Obr. 6: Odchovný RAS systém využívaný v rámci projektu na FFB.



Obr. 7: Kontrolní přelovení u sumce velkého v průběhu projektu.



Obr. 8: Biometrické měření sumce velkého po anestezií.





...ovaného období v průběhu projektu A – ryby s ozónem, B – ryby bez ozónu.





EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

Obr. 10: Senzorické posouzení rybí svaloviny u candáta obecného sumce velkého.