



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

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



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

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

Masová produkce vírníků (*Brachionus plicatilis*) a jejich využití k odchovu larev candáta obecného (*Sander lucioperca*)

C. Yanes-Roca, V. Profant, T. Polícar



ISBN 978-80-7514-124-8





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

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

Masová produkce vířníků (*Brachionus plicatilis*) a jejich využití k odchovu larev candáta obecného (*Sander lucioperca*)

C. Yanes-Roca, V. Profant, T. Polícar

Vodňany



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství

Příprava a vydání publikace byly uskutečněny v rámci

Operačního programu Rybářství 2014–2020:

Projekt Technologie IV, reg. č. CZ.10.5.109/5.2/4.0/19_014/0000895

byl spolufinancován Evropskou unií

Obsahová část publikace byla zpracována

za finanční podpory následujících projektů:

NAZV projekt QK1820354 Technická a technologická inovace intenzivních chovů ryb založená na nových znalostech – 70 %

NAZV projekt QK1810296 Využití alternativních komponent a inovativních postupů ve výživě ryb – 30%



č. 185

ISBN 978-80-7514-124-8

OBSAH

1. ÚVOD	7
1.1. Morfologie vířníků	8
1.2. Reprodukce	11
1.3. Optimální podmínky pro kultivaci vířníků druhu <i>Brachionus plicatilis</i>	13
1.4. Ostatní druhy vířníků používané ke kultivaci v akvakultuře	14
1.5. Krmení vířníků	15
1.6. Kontaminace kultury vířníků	15
2. CÍL TECHNOLOGIE	17
3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE	18
4. POPIS TECHNOLOGIE	19
4.1. Vytvoření vlastní zásobní kultury	19
4.2. Počáteční odchov vířníků	21
4.3. Produkce vířníků ve statickém (dávkovém) systému	23
4.4. Kontinuální produkce vířníků ve velkokapacitním systému využívající RAS	26
4.5. Odkrm larev candáta obecného pomocí vířníků	31
4.6. Praktické a ekonomické zhodnocení produkce a využití vířníků v intenzivním chovu larev candáta obecného	33
5. EKONOMICKÉ PŘÍNOSY	39
6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI	39
7. SEZNAM LITERATURY	40

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

1. ÚVOD

Vířníci jsou jako potravní organismy v akvakultuře úspěšně využíváni po několik desetiletí. Z tohoto důvodu je dnes známo několik kultivačních technik pro jejich intenzivní produkci (Hagiwara a kol., 2017). Tyto metody jsou využívány po celém světě (Fielder a kol., 2000; Lubzens a kol., 2001; Dhont a kol., 2013; Kotani, 2017a). Relativně snadná dostupnost velkého množství těchto živých potravních organismů přispěla k úspěšnému chovu larev více než 60 druhů mořských ryb a 18 druhů korýšů (Sakakura, 2017). Je pravdou, že vířníci se v chovu larev sladkovodních druhů ryb příliš nevyužívají (Steenfeldt, 2015). Výjimkou se v poslední době stává optimalizovaný chov larev candáta obecného, u kterého se vířníci začali využívat poměrně nedávno (Imentai a kol., 2019a,b, 2020; Yanes-Roca a kol., 2018, 2020a,b). Hlavní výhodou vířníků, která vede k jejich úspěšné masové kultivaci a produkci, je jejich vysoká adaptabilita na podmínky prostředí. Vysoká adaptabilita vířníků na podmínky prostředí je dána především následujícími vlastnostmi vířníků: (1) typické planktonní chování, (2) tolerance k široké škále podmínek prostředí (teplota, pH, salinita, obsah rozpuštěného kyslíku, koncentrace amoniaku a dusitanů atd.), (3) vysoká plodnost a (4) krátký reprodukční cyklus zajišťují vysokou efektivitu jejich chovu (Hagiwara a kol., 2017; Kotani, 2017a,b; Sakakura, 2017).

Vířníci (kmen Rotifera) jsou běžně nabízeni larvám ryb v průběhu prvních 5–30 dní exogenní výživy. Předkládaná hustota vířníků ovlivňuje množství a frekvenci krmení, potravní chování a následně rychlost a efektivitu růstu larev odchovávaných ryb (Imentai a kol., 2019a; 2020). Živé potravní organismy totiž mohou významně podpořit vývoj trávicího traktu a zlepšit trávicí procesy především u larev mořských a dravých sladkovodních druhů ryb. Na začátku exogenní výživy larev jsou používány malé druhy či velikostní formy vířníků (Kotani, 2017a). S následným růstem larev se postupně využívají velikostně větší vířníci. Vířníci jsou velmi často považováni za jakési živé potravinové kapsle sloužící k přenosu živin do těla larev ryb. Tyto živiny zahrnují především vysoce nenasycené mastné kyseliny (hlavně 20: 5n-3 a 22: 6 n-3), enzymy a vitamíny, které jsou nezbytné pro vysoké přežití a normální vývoj larev mořských druhů ryb (Lubzens a kol., 1989; Kotani, 2017b) či larev candáta obecného (*Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)) (Yanes-Roca a kol., 2018; 2020a,b).

Hlavními výhodami použití vířníků při odchovu larev ryb je jejich malá velikost a planktonní chování vyznačující se pomalými, trhavými pohyby. Tyto vlastnosti z nich činí vhodnou a snadno dosažitelnou kořist (potravu) pro larvy četných druhů ryb s nedokonalě vyvinutým trávicím traktem, u kterých na začátku příjmu exogenní výživy stále dochází k absorpci žloutkového váčku. Dále se jedná o vhodnou potravu pro larvy některých dalších druhů ryb, které

nejsou schopny ulovit větší kořist, jako jsou např. běžně využívaná naupliová stadia žábřonožky *Artemia* sp. Největším potenciálem masové a řízené kultivace vířníků je však možnost kontinuálně odchovávat tyto organismy ve velmi vysokých hustotách s relativně nízkými produkčními náklady (Dhont a kol., 2013; Hagiwara a kol., 2017).

V intenzivní akvakultuře je nejvíce rozšířený a využívaný *Brachionus plicatilis* Müller, 1786. Jde o tzv. euryhalinní druh vířníka tolerující široké rozpětí salinity prostředí. Český název rodu tohoto vířníka je „krunýřenka“, který patří do skupiny točivky Monogononta. Ovšem u vířníků se používají výlučně názvy latinské, protože většina český název ani nemá. Tento druh může být velmi úspěšně využíván v odchovech larev jak mořských, tak i sladkovodních ryb. To pak následně vede k jejich vysokému přežití při odchovu (Yanes-Roca a kol., 2018; Yoshimatsu a Hossain, 2014).

Vedle mořského *Brachionus plicatilis* se ve sladkovodní akvakultuře larev ryb také chovají a využívají sladkovodní druhy vířníků (krunýřenka rybníční *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766 a krunýřenka zakřivená *Brachionus angularis* Gosse, 1851), u kterých je jejich chov podstatně obtížnější z důvodu jejich časté kontaminace bakteriálními infekcemi a následným kolapsem jejich kultur, a to zejména u *Brachionus calyciflorus* (Ogata, 2017).

1.1. Morfologie vířníků

Vířníci patří mezi nejmenší mnohobuněčné organismy (cca 100–1 000 μm), z nichž zhruba 90 % obývá sladkovodní prostředí. Vědecky popsáno bylo více jak 2 000 druhů vířníků, u nás jich žije zhruba 600 druhů. Konkrétně v rámci rodu *Brachionus* se v ČR vyskytuje minimálně 18 druhů (Brusca a kol., 2016).

1.1.1. Morfologie těla a pohlavní dimorfismus

Tělo vířníků se skládá ze tří částí – hlavy, trupu a nohy (Obr. 1) a je složeno z konstantního počtu buněk, který je druhově specifický.

Samice vířníků jsou větší a komplexněji vyvinuty z hlediska funkčních orgánů trávicího traktu a reprodukční soustavy. Na jednotlivých částech těla samic lze potom dobře rozlišovat jak jednotlivé části těla (hlavu, trup a u rodu *Brachionus* i nohu), tak i vnitřní orgány:

Hlava na přední části nese zatažitelný rotující vířivý orgán neboli *coronu*, která je snadno rozpoznatelná pomocí jednoho nebo většinou dvou věnců brv (*trochus* a *cingulum*). Tyto věnce brv neustále kmitají, víří, a tím přihánějí drobnou potravu k ústnímu otvoru (u většiny druhů především řasy a detrit) a zároveň slouží jako hnací orgán při planktonním pohybu (plavání). Od vířících

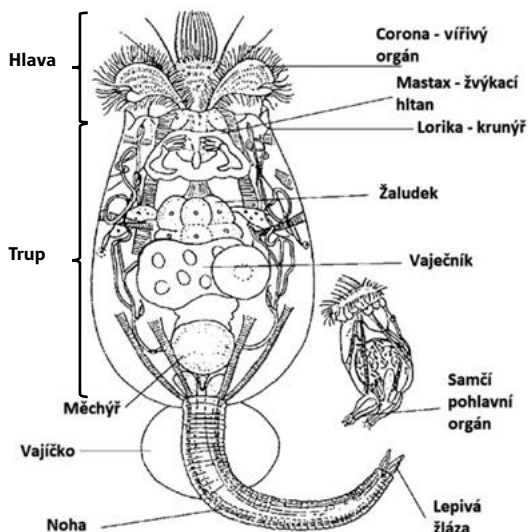
MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

brv je ostatně také odvozen název těchto živočichů – vířníci (z latinského rota „kolo“ a fera „nést“).

Trup je na povrchu kryt vnitrobuněčnou proteinovou kutikulou, která je chráněna zpevněným krunýřem. U rodu *Brachionus* je vybaven 2–6 trny vpředu, další jsou vzadu a po stranách. U některých druhů vířníků však krunýř může zcela chybět. Pod kutikulou je trávicí trakt, vylučovací systém a pohlavní orgány samic (v případě skupiny Monogononta, kam patří i rod *Brachionus*, je gonáda nepárová). Charakteristickým orgánem trávicí soustavy samic vířníků je *mastax* – svalnatý hltan s chitinózními výstupky, který drtí přijatou potravu.

Noha je vybavena zatahovací strukturou prstencového typu bez segmentace s jedním nebo čtyřmi prstovými výběžky. Na konci nohy se vyskytuje typická lepivá žláza produkující lepkavou tekutinu. Tato tekutina slouží k dočasnému přichycení vířníků na různé podklady.

Samci planktonních druhů vířníků skupiny Monogononta jsou menší než samice (u rodu *Brachionus* je samec oproti samici zhruba poloviční) a velmi primitivně vyvinuti. Jejich život je krátký a jeho cílem je kopulace se samicemi. Z tohoto důvodu samci nemají vyvinutý trávicí trakt a ani močový měchýř, takže nepřijímají potravu. Většinu těla samce zaujímá jedno varle, které je naplněno spermii. Výskyt samců v populaci vířníků a jejich funkční pohlavní soustava zajišťuje pohlavní rozmnožování vířníků při zhoršení podmínek prostředí.



Obr. 1. Morfologie a anatomie vířníka *Brachionus plicatilis*: vlevo větší samice, vpravo samec (upraveno dle Yoshimatsu a Hossain, 2014).

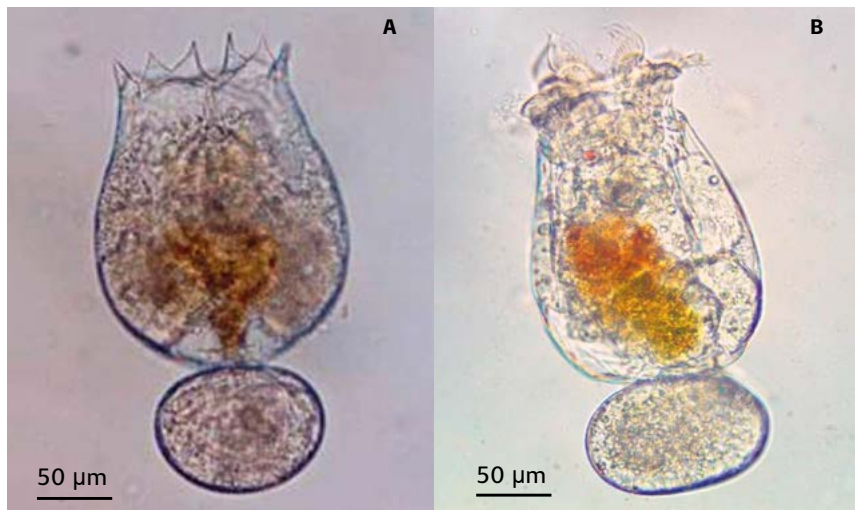
1.1.2. Velikost

Samci vírníků jsou obecně méně vyvinutí a menší než samice. U některých druhů vírníků velikost dospělých samců dosahuje pouze 60 μm . Naopak velikost těla dospělých amiktických samic dosahuje až 340 μm .

V akvakultuře se používá jednoduchá klasifikace různých velikostních skupin vírníků, která je založena na dvou různých morfologických typech. Mezi malé druhy vírníků (S – typ, dle „small“ angl. malý) patří například *Brachionus angularis* či *Brachionus rotundiformis*, a naopak mezi velké druhy vírníků (L – typ, dle „large“ angl. velký) pak *Brachionus plicatilis* (Obr. 2; Fu a kol., 1991; Campillo a kol., 2005). Rozdíly ve velikosti těla jsou mezi těmito dvěma velikostními typy poměrně značné. Velikost těla je u typu L v rozmezí od 130 do 340 μm (s průměrem 239 μm), u typu S pak v rozmezí od 100 do 210 μm (s průměrem 160 μm ; Fukusho a lwamoto, 1981; Hagiwara a kol., 1995a, 2001).

Vedle typů S a L jsou v tropické akvakultuře ještě využíváni vírníci typu SS (super malé) s velikostí těla od 90–150 μm s průměrnou velikostí 110 μm . Používají se jako první exogenní výživa larev ryb, které mají velmi malý ústní otvor, jako jsou např. králičkovcovití (tj. rod *Siganus* sp.), kanicovití (např. rody *Epinephelus* a *Mycteroperca* sp.) nebo akvaristům dobře známé neonky rodu *Paracheirodon* a další. U těchto druhů dosahují larvy na počátku exogenní výživy velikosti těla jen několik milimetrů, přičemž ústní otvor je široký kolem 50–100 μm . Vírníci typu SS však nepředstavují samostatné druhy (nejsou geneticky izolováni od typu S), ale jsou to pouze menší poddruhy běžných vírníků typu S. Morfologické typy S a L se také liší v nárocích na optimální teplotu pro jejich růst. Pro typ S je optimální teplota vody 28–32 °C, zatímco typ L vyžaduje pro optimální růst teplotu 18–25 °C. Vzhledem k tomu, že často dochází ke kontaminaci kultur jednotlivých morfologických typů vírníků, může být k získání čistých kultur vírníků použito snížení nebo zvýšení teploty vody v průběhu odchovu. Výsledkem je potom eliminace jednoho typu, kterému dané teplotní podmínky nevyhovují, a získání čisté populace vírníků daného typu, pro který jsou teplotní podmínky optimální (Fu a kol., 1991; Hagiwara a kol., 2001).

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)



Obr. 2. Morfologie rodu *Brachionus*: celkový pohled na *Brachionus rotundiformis* (A) a *Brachionus plicatilis* (B). Na obou fotografiích je samička s vajíčkem (Foto: C. Yanes-Roca).

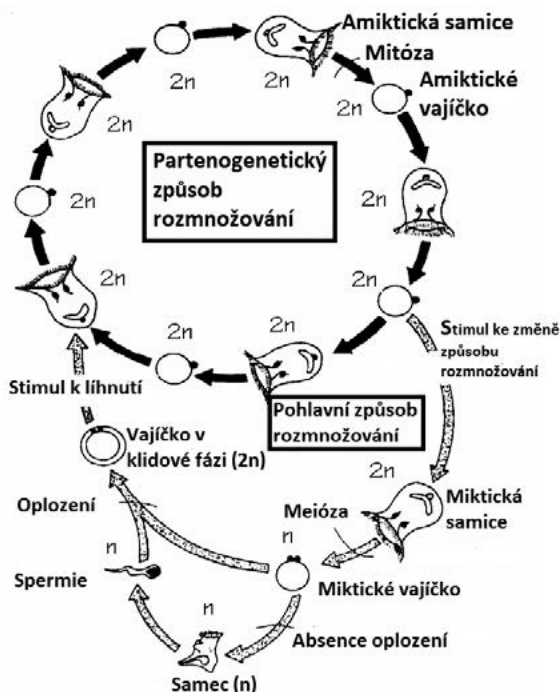
1.2. Reprodukce

Životní cyklus vířníka *Brachionus plicatilis* může být charakterizován dvěma různými cykly reprodukce. Prvním z nich je partenogenetický způsob rozmnožování a druhým je bisexuální pohlavní rozmnožování (Obr. 3). Střídání těchto dvou způsobů rozmnožování se nazývá heterogonie (vyskytuje se též u některých korýšů či hmyzu). V průběhu partenogenetického cyklu amiktické samice produkují amiktická vajíčka (tj. diploidní obsahující dvě sady chromozómů – $2n$), z kterých se poté líhnou a vyvíjejí opět amiktické samice. Za specifických podmínek prostředí (v přírodě hlavně na konci vegetační sezóny, kdy se zkracuje den a snižuje se teplota vody), samice přecházejí na složitější způsob reprodukce, což vede ke vzniku populace miktických a amiktických samic. Ačkoli nejsou tyto samice rozlišitelné morfologicky, miktické samice produkují haploidní vajíčka (s jednou sadou chromozómů – $1n$). Larvy, které se vylíhnou z těchto neoplozených miktických vajíček, se vyvíjejí v haploidní samce (Dhert, 1996).

Po oplození samice spermii po kopulaci následně vznikají tzv. trvalá vajíčka, někdy nazývané také jako cysty v klidové fázi. Tato trvalá vajíčka jsou odolná vůči nepříznivým podmínkám prostředí. Z nich se pak po dosažení vhodných podmínek prostředí líhnou a vyvíjí amiktické samice. Líhnutí

amiktických samic je výsledkem zlepšení podmínek prostředí, popřípadě vytvoření optimálních životních podmínek v chovu, a to z hlediska teploty a salinity vody nebo zvýšení potravní nabídky. Je důležité si také uvědomit, že pohlavní a partenogenetický cyklus vířníků je také ovlivněn vztahem potravní nabídky a hustotou chovaných vířníků v dané populaci. Abychom udrželi partenogenetický cyklus rozmnožování vířníků, platí pravidlo, že čím je vyšší hustota vířníků (až kolem 500–1000 jedinců.ml⁻¹), tím musí být vyšší dávkování řas do kultury vířníků. V opačném případě dochází k hladovění vířníků a změně způsobu rozmnožování na pohlavní cyklus, což vede k zániku chované kultury vířníků nebo jejich snížené produkci (Dhert a kol., 1995).

Obecně je z biologického hlediska produkce trvalých vajíček u vířníků jejich určitá adaptace na přežití nepříznivých podmínek prostředí (jako je sucho, nízká teplota či nedostatek potravy atd.). Podobně tomu je i u jiných planktonních organismů (např. perloočky či žábřonožky). Trvalá vajíčka takto mohou přežít i několik let, aniž by po opětovném navození vhodných životních podmínek ztratila líhnivost (Hagiwara a kol., 1995a,b; Dhont a kol., 2013).



Obř. 3. Reprodukční cyklus vířníků (upraveno dle Yoshimatsu a Hossain, 2014).

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)

1.3. Optimální podmínky pro kultivaci vířníků druhu *Brachionus plicatilis*

1.3.1. Salinita

I když vířníci *Brachionus plicatilis* snášejí široký rozsah salinity od 1 do 97 ppt (1 ppt = 1 g.l⁻¹) neboli ‰, optimální reprodukce probíhá pouze při salinitě 20 až 35 ppt (Lubzens a kol., 1989). Pokud jsou vířníci používáni ke krmení larev ryb chovaných při jiné salinitě (rozdíl vyšší než 5 ppt), je vhodné vířníky alespoň částečně aklimatizovat na nové podmínky. Rychlý šok způsobený velkým rozdílem v salinitě vody může snižovat pohyb vířníků, nebo může vést až k jejich úhynu, což je pro chov larev ryb nežádoucí. Larvy potřebují živou a pohyblivou potravu, která se vznáší ve vodní sloupci (Dhert, 1996; Imentai a kol., 2019b).

1.3.2. Teplota vody

Volba optimální teploty vody pro kultivaci a odchov závisí na daném morfologickém typu chovaných vířníků. Vířníci typu L se chovají při nižších teplotách (v průměru 22 °C), naopak vířníci typu S při teplotách vyšších (v průměru 30 °C). Obecně platí, že s rostoucí teplotou vody se zvyšuje reprodukční aktivita vířníků a zároveň se zvyšují jejich potravní nároky. V této souvislosti je nutné si uvědomit, že výživa a krmení vířníků jsou jedním z nejdůležitějších a nejvyšších produkčních nákladů spojených s jejich odchovem a produkcí. Tyto produkční náklady jsou tedy významně ovlivněny teplotou vody, která se při odchovu vířníků využívá. Produkční náklady vynaložené na chov vířníků následně ovlivňují i produkční náklady na odchov larev ryb. Z hlediska rentability a efektivity chovu larev ryb je proto důležité zvolit optimální teplotu vody pro produkci vířníků podporující jejich rychlou a masovou produkci s minimálními nároky na výživu, a tím přiměřenými produkčními náklady. Vyšší teplota vody může totiž často vést k překrmování, nebo naopak k hladovění odchovávaných vířníků, což má přímý negativní vliv na produkci vířníků, popřípadě také kvalitu vody při jejich chovu. Naopak nižší teplota vody zpomaluje růst a reprodukci, a snižuje celkovou efektivitu jejich produkce (Dhert, 1996; Tab. 1).

Tab. 1. Vliv teploty na délku embryonálního vývoje a na reprodukční aktivitu vířníků druhu *Brachionus plicatilis* (Dhert, 1996; Kotani a kol., 2005).

Teplota vody (°C)	15 °C	20 °C	25 °C
Délka embryonálního vývoje (dny)	1,3	1,0	0,6
Věk samic při první reprodukci (dny)	3,0	1,9	1,3
Interval mezi dvěma následujícími reprodukce (hodiny)	7,0	5,3	4,0
Délka života (dny)	15	10	7
Počet vajíček od jedné samice za život	23	23	20

1.3.3. Další parametry kvality vody

Vířníci jsou velmi tolerantní k nízkým koncentracím rozpuštěného kyslíku (2 mg.l⁻¹), nicméně optimální koncentrace by se měla pohybovat mezi 5 až 10 mg.l⁻¹. Provzdušňování by mělo být mírné a konstantní, aby bylo vytvořeno ideální nasycení vody kyslíkem bez mechanického poškozování chovaných vířníků (Dhert, 1996; Kotani a kol., 2005).

Optimální pH pro odchov je nad 6,6. Nejlepších výsledků je dosahováno při pH 7,5–8,5 (Epp a Winston, 1978; Dhert, 1996; Bentley a kol., 2008).

Koncentrace celkového amoniaku by měla být udržována pod hodnotou 3 mg.l⁻¹. V případě, že koncentrace celkového amoniaku dosáhne hodnoty nad 3 mg.l⁻¹, dochází v takovýchto podmínkách k inhibici (snížení) reprodukce, a tím celé produkce sladkovodních vířníků (Dhert, 1996).

1.4. Ostatní druhy vířníků používané ke kultivaci v akvakultuře

Dalšími druhy vířníků, které jsou nejčastěji kultivovány a produkovány k výživě larev ryb ve sladkovodní akvakultuře, jsou: *Brachionus calyciflorus* a *Brachionus rubens* Ehrenberg, 1838 a *Brachionus angularis*. Tyto druhy snášejí teplotu vody mezi 15 až 31 °C a jsou poměrně tolerantní ke zvýšené salinitě vody (5–10 ppt). Toho se využívá i při jejich kultivaci, kdy jsou odchováni ve vodě s vyšší salinitou nebo v jiném uměle připravovaném médiu. To může být např. připraveno následovně: 96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄·2H₂O, 60 mg MgSO₄ a 4 mg KCl v 1 litru destilované vody s optimálním pH vody 6–8, teplotou vody 25 °C a minimální koncentrací kyslíku 2 mg.l⁻¹ (Hagiwara a Kuwada, 2004). Tato technika ochraňuje chov sladkovodních vířníků před bakteriální kontaminací či kontaminací nálevníky (Dhert, 1996).

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

1.5. Krmení vířníků

Úspěšný a efektivní odchov vířníků druhů *Brachionus plicatilis*, *B. calyciflorus*, *B. angularis* a *B. rubens* je v poslední době realizován díky výživě živými uměle produkovanými kulturami řas druhu *Scenedesmus costato-granulatus* Skuja 1948, *Kirchneriella contorta* Schmidle, 1897, *Phacus pyrum* (Ehrenberg) Stein, 1878, *Ankistrodesmus convolutus* Corda, 1838, *Nannochloropsis oculata* (Droop) D.J.Hibberd 1981 a *Chlorella* sp. nebo kultur kvasinek (Hagiwara a kol., 2017; Sakakura, 2017). Avšak kvasinky jsou méně vhodné z hlediska jejich nutriční hodnoty a nebezpečí kontaminace kultury vířníků bakteriemi či nálevníky. Kontinuální produkce živých kultur řas je poměrně časově, prostorově a technologicky náročná. Z tohoto důvodu se v produkci a kultivaci vířníků běžně využívají komerčně vyráběná krmiva (koncentrované emulze řas), které lze dlouhodobě uchovávat (Dhert, 1996; Hagiwara a kol., 1995a, 2001, 2017). Pro efektivní a úspěšnou kultivaci vířníků v kontrolovaných podmínkách lze například úspěšně využít umělá komerční krmiva, např. Nanno 3600 od firmy Reed Mariculture Inc., USA) nebo Roti-Rich (Florida Aqua Farms Inc., USA).

1.6. Kontaminace kultury vířníků

Chov sladkovodních vířníků je především náchylný na kontaminaci bakteriemi či nálevníky (Dhert, 1996).

Většina bakterií není pro vířníky patogenní. Avšak bakteriální kontaminaci a rozšíření bakterií v kultuře vířníků je nutné se vyvarovat. Riziko bakteriální kontaminace spočívá v kumulaci jejich biomasy v kultuře vířníků a v postupné inhibici biologických a fyziologických procesů u odchovávaných vířníků. Zároveň mohou bakteriemi kontaminovaní vířníci negativně působit i přes potravní řetězec na larvy odchovávaných ryb. Tyto negativní vlivy se projevují sníženým růstem a přežitím odchovávaných ryb, které jsou způsobeny především poruchami trávení či narušením vývoje trávicího traktu larev (Dhert, 1996).

Naopak některé bakterie mohou být pro vířníky dalším vhodným, doplňkovým potravním zdrojem. Jedná se například o bakterie rodu *Pseudomonas* nebo *Acinetobacter* (Skjermo a Vadstein, 1993). Bakterie rodu *Vibrio* (Verdonck a kol., 1994) jsou nejčastěji se vyskytující bakteriální flórou v kultuře vířníků. Vířníci často tyto bakterie využívají jako doplňkovou potravu. Jejich hustota se však velmi liší v různých odchovných systémech vířníků i v jednotlivých produkčních rybářských provozech. Proto je výživa vířníků realizována především pomocí zkrmování uměle produkovaných řasových kultur (viz kapitola 1.5.). Rychlého nastartování a následné silné podpory růstu kultivované populace vířníků je

možné dosáhnout jejím obohacením o bakteriální kultury rodů *Cytophaga/Flavobacterium* nebo *Pseudomonas/Alcaligenes* (Skjermo a Vadstein, 1993).

Množství a hustota bakterií může být snadno kontrolována pomocí řízené (většinou snížené) teploty vody. Bakterie by měly být především kontrolovány a eliminovány po obohacení kultury vířníků nebo při uchovávání vířníků před vlastním zkrmením larvám ryb. Vířníci jsou tak udržováni v neoptimálních (suboptimálních) životních podmínkách.

Nechtěnou bakteriální infekci vířníků lze také eliminovat použitím probiotických bakterií, které se aplikují přímo do produkované kultury vířníků (Gatesoupe, 1999). V tomto případě jako probiotika označujeme živé mikrobiální doplňky krmiva, které příznivě ovlivňují hostitelský organismus (v našem případě vířníky) tím, že zlepšují jejich střevní mikrobiální rovnováhu (Fuller, 1989; Jamali a kol., 2015). Jestliže se k výživě larev ryb využívají vířníci pozitivně ovlivnění živými probiotickými bakteriemi, pak tato výživa zlepšuje zdravotní stav larev ryb, pozitivně ovlivňuje jejich gastrointestinální mikrobiom a zvyšuje jejich odolnost vůči patogenům a nemocem (Gatesoupe, 1999). Probiotické bakterie skrze výživu vířníky umožní totiž odchovávaným larvám ryb nastartovat obranné mechanismy imunitního systému, které brání množení patogenních bakterií v jejich těle (Vanbelle a kol., 1990; Dhert, 1996). Následně u odchovávaných larev dochází k zvýšenému přežití na konci odchovu, což pozitivně ovlivňuje efektivitu a rentabilitu jednotlivých chovaných ryb (Yanes-Roca a kol., 2020b).

Nejčastěji se vyskytujícími nálevníky v produkované kultuře vířníků pochází z řádu *Holotricha* a podčeledi *Hypotrichia* (např. rody *Uronema* sp. a *Euplotes* sp.). Jejich výskyt je obecně způsoben zhoršenými podmínkami prostředí při kultivaci vířníků. Přítomnost většiny nálevníků není v kultuře vířníků žádoucí, jelikož nálevníci potravně konkurují kultivovaným vířníkům. To může zvyšovat produkční náklady na kultivaci vířníků. Vířníci jsou navíc v těchto podmínkách v horší kondici a mají sníženou obranyschopnost a konkurenceschopnost vůči výskytu konkurenčních organismů (v tomto případě nálevníků). Nálevníci také v kultuře vířníků produkují metabolické odpady, které ve vodě zvyšují koncentraci amonných iontů a následně dusitanů a také způsobují snížení pH. Nicméně nálevníci mají pozitivní vliv na čištění kultur vířníků od vyskytujících se bakterií a detritu. Kontaminaci prvky lze významně snížit aplikací 36–38% roztoku formaldehydu v koncentraci 0,015 – 0,02 ml.l⁻¹. Ten se přidá do nádrže, kde probíhá kultivace řas, v době 24 hodin před aplikací řas (jako potraviny) do kultury vířníků.

Snížené koncentrace nálevníků nebo bakteriálních kontaminací u produkovaných populací vířníků je možné dosáhnout, jestliže se při kontrole a čištění chovu vířníků budou používat jen sterilní a vydezinfikované

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

fytoplanktonní sítky s oky, které jsou menší než 50 µm. Zároveň může být tato technika použita jako preventivní opatření při založení nových startovacích kultur vířníků, neboť tyto kultury jsou velmi náchylné na jakoukoliv kontaminaci nálevníky či bakteriemi (Dhert, 1996; Yoshimatsu a Hossain, 2014).

2. CÍL TECHNOLOGIE

Cílem této ověřené technologie bylo popsat úspěšnou realizaci masové kultivace vířníků druhu *Brachionus plicatilis* v kontrolovaných podmínkách dvěma způsoby, a to konkrétně pomocí statického (dávkového) a velkokapacitního systému využívajícího recirkulační akvakulturní systém (RAS). U obou způsobů produkce vířníků byly porovnány jejich technické, technologické a ekonomické nároky včetně stanovení jejich rentability a potencionální kapacity pro následný intenzivní odchov larev candáta obecného (*Sander lucioperca*, Linnaeus 1758) v RAS. Cílem této technologie také bylo porovnat efektivitu intenzivního chovu larev candáta obecného krmených pomocí vyprodukovaných vířníků oproti larvám krmených pouze vylíhnutými naupliemi žábřonožky solné (*Artemia salina*, Linnaeus 1758) při počáteční fázi exogenní výživy.

Aplikace vířníků právě larvám candáta obecného byla testována z následujících důvodů. Larvy candáta obecného mají na začátku příjmu exogenní potravy velmi malý ústní otvor. Tento fakt je velice problematický s ohledem na následný chov, který může být zatížený poměrně vysokou mírou kanibalismu a mortalitou. Z tohoto důvodu musí být larvy candáta krmeny velmi malými živými organismy, které se optimálně pohybují, jsou v optimální hustotě a mají přijatelný obsah živin. Pouze tyto předpoklady mohou zvýšit přežití larev candáta obecného v kontrolovaných podmínkách chovu a zajistit tak jeho rostoucí průmyslovou produkci. Současně tyto předpoklady mohou v budoucnu zvýšit rentabilitu a konečný zisk farem, které se touto produkcí candátů zabývají.

Ovšem výsledky této ověřené technologie mohou být také využitelné pro rozvoj intenzivní akvakultury okrasných tropických druhů ryb (například teter a neonek z čeledi Characidae či labyrintní ryb podřád Anabantoidi či jiných drobných druhů ryb chovaných či zaváděných v intenzivní akvakultuře, které mají podobné biologické a potravní nároky jako larvy candáta obecného. Tyto druhy ryb se v současné Evropě také využívají k diverzifikaci sladkovodní akvakultury s cílem zvýšit konkurenceschopnost a rentabilitu produkčních podniků.

3. MÍSTO OVĚŘOVÁNÍ TECHNOLOGIE

Technologický proces popsany v této publikaci byl ověřen ve spolupráci výzkumných pracovníků z Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (FROV JU) a s chovateli ryb ze společnosti Tilapia, s.r.o., v Táboře a Nuzbelích v roce 2019 a 2020. Masová kultivace vířníků (*Brachionus plicatilis*) byla testována a optimalizována především ve výzkumném zařízení pro studium biologie a kultivace potravních organismů v Laboratoři intenzivní akvakultury FROV JU (Obr. 4). Tento technologický proces byl aplikován a modifikován na základě několika dříve publikovaných vědeckých publikací týkajících se masové kultivace vířníků (Dhert, 1996; Hagiwara a Kuwada, 2004; Hagiwara a kol., 2017).



Obr. 4. Celkový pohled na jednotlivé statické nebo i dávkové a kontinuální velkokapacitní systémy pro odchov a produkci vířníků *Brachionus plicatilis* v Laboratoři intenzivní akvakultury, Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (Foto: C. Yanes-Roca).

4. POPIS TECHNOLOGIE

4.1. Vytvoření vlastní zásobní kultury

Cysty vířníků *Brachionus plicatilis* pro vytvoření zásobní kultury pocházely od firmy Florida Aqua farms, která působí v Ruskin na Floridě (USA). Po získání cyst bylo přistoupeno k přípravě 5 litrů vody určené ke kultivaci vířníků. Ta byla připravena rozpuštěním 125 gramů mořské soli (Instant Ocean Sea Salt) v pitné vodě. Salinita připravené vody byla 25 ppt (25 g.l⁻¹). Připravená voda byla následně provzdušněna klasickým akvaristickým vzduchováním (pomocí kompresoru o výkonu 200 W, silikonové hadičky, plastového škrťtka a malého vzduchovacího kamene ve tvaru válce o průměru 12 mm a délce 25 mm). Po hodinovém provzdušnění byla voda přefiltrována přes filtrační papír s oky o velikosti 1 µm. Takto připravená voda byla ještě přes noc vydezinfikována 50 ml chlornanu sodného (NaClO) o koncentraci 5 mg.l⁻¹. Druhý den byl nadbytek NaClO ve vodě neutralizován pomocí 5 ml roztoku 0,1 M HCl. Následně bylo upraveno pH vody na 7,5 rozpuštěním 0,5 g jedlé sody (NaHCO₃) a takto připravená voda byla ještě přefiltrována přes ultra jemný filtr s oky 0,45 µm. Následně byla kádinka o objemu 240 ml naplněna z poloviny připravenou kultivační vodou (120 ml), do které byly vysazeny zakoupené cysty. Jejich líhnutí probíhalo po dobu tří dnů při jemném vzduchování (které bylo stejné jako při přípravě vody), kontinuálním osvětlením (24 hodin s intenzitou 1 000 luxů), teplotě vody 23–25 °C, salinitě 25 ppt, obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě 5–10 mg.l⁻¹, pH 7,5–8,5. Kádinka byla umístěna v klimatizovaném boxu se stabilní teplotou 25,0 ± 1,0 °C, který se používal i v dalších fázích, týkající se jak produkce zásobní kultury, tak počátečního chovu vířníků. Vířníci vylíhli z cyst byli dále krmeni po dobu sedmi dnů koncentrovanou a zakonzervovanou kulturou řasy druhu *Nannochloropsis oculata* v podobě zakoupeného komerčního přípravku Nanno 3600 od firmy Reed Mariculture (USA) s denní dávkou 0,1 ml. Před aplikací byla dávka nejprve rozmíchána v kultivační vodě o objemu 10 ml a po řádném rozmíchání aplikována pipetou do kultury vířníků. Po sedmi dnech odchovu byla získaná inokulační kultura vířníků vydezinfikována antibiotiky (Erythromycin 10 mg.l⁻¹ s dobou působení 24 hodin). Dezinfekce kultury vířníků spočívala v zabíjení volně plavajících jedinců a ostatních přítomných sekundárně se vyskytujících organismů a patogenů (jako jsou bakterie, nálevníci atd.). Dezinfekce se však nedotkla nově nakladených vajíček vířníků v průběhu 7denního odchovu, které se v daném okamžiku vyskytovaly v kultuře vířníků. Vajíčka byla poté filtrací oddělena od mrtvých vířníků pomocí síta o velikosti ok 130 µm. Vajíčka vířníků protekla přes síto a ostatní větší nerozpuštěné látky (včetně mrtvých vířníků a dalších organismů) byly zachyceny na použitém

sítu. Potom byla vajíčka zachycena na sítku o velikosti ok 50 μm . Odpadní voda (o objemu cca 120 ml) se zbytky použitého antibiotika byla následně zlikvidována mimo vodní prostředí, a to sorbcí na aktivní uhlí, které bylo následně zlikvidováno jako nebezpečný odpad.

Získaná vajíčka byla opětovně nasazena do předem vysterilizované kádinky o celkovém objemu 240 ml s užitným polovičním objemem (120 ml). Ke kultivaci získaných vajíček byla použita voda připravená ke kultivaci vířníků s vytvořenými optimálními podmínkami prostředí pro vířníky (viz předchozí text). Po následném vylíhnutí vířníků z vajíček, které probíhalo po dobu tří dnů, byli vylíhnutí jedinci použiti pro založení zásobní kultury. Tuto kulturu bylo možné považovat za prostou potencionálních patogenů či konkurentů vířníků, kterými by mohli být výše uvedené bakterie a nálevníci.

Chov zásobní kultury vířníků probíhal ve čtyřech zkumavkách (o celkovém objemu 20 ml) (Obr. 5A). Zkumavky byly předem vysterilizovány autoklávem a naplněny 15 ml vody připravené ke kultivaci s optimálními podmínkami prostředí. Poté byli do zkumavek nasazeni vířníci v počáteční hustotě 2 jedinci. ml^{-1} . V takovýchto podmínkách odchov vířníků probíhal po dobu 7 dní při jemném vzduchování vody v klimatizované místnosti o teplotě vzduchu 25 ± 1 °C. Kontinuální osvětlení po dobu 24 hodin denně poskytovaly dvě zářivky s intenzitou světla 1 000 luxů (měřeno v těsné blízkosti zářivky) umístěné ve vzdálenosti 20 cm od zkumavek. Vířníci v každé zkumavce byli denně krmeni jednotnou krmnou dávkou 0,1 ml přípravku Nanno 3600, která byla před aplikací vždy nejprve rozmíchána v kultivační vodě o objemu 10 ml a po řádném rozmíchání aplikována pipetou do kultury vířníků. Po sedmidenním odchovu vzrostla hustota na 20–50 jedinců. ml^{-1} , což umožňovalo využít tuto kulturu k naočkování kádinek o větším objemu (240 ml), jelikož celkově bylo touto fází chovu vyprodukováno ve třech 15mililitrových zkumavkách 900–2 250 jedinců vířníků. Cílem bylo postupně rozmnožovat vířníky z jejich zásobní kultury, a dosáhnout tak jejich produkce v masivním měřítku (viz další kapitola).

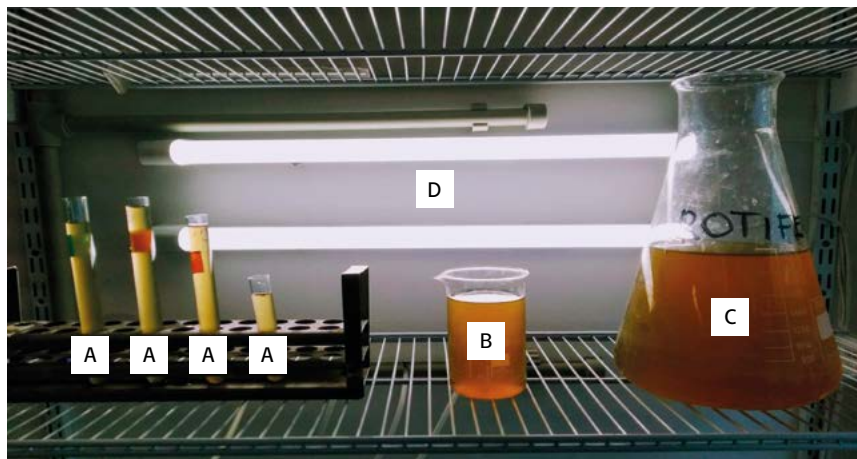
Čtvrtina této zásobní kultury (jedna zkumavka postupně v čase rozsazována či redukována podle nárůstu hustoty kultury vířníků) byla v následujících fázích chovu vířníků neustále odděleně odchovávána s cílem udržet čistou a sterilní zásobní kulturu vířníků. Tato kultura sloužila jako rezerva s potencionálním využitím při jakémkoliv kolapsu masového chovu a produkce vířníků. Po několika měsících odchovu této zásobní kultury, byla opětovně provedena její dezinfekce pomocí antibiotik stejným způsobem, jak již bylo popsáno v předchozím textu.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

4.2. Počáteční odchov vířníků

Po dosažení konečné hustoty na 20–50 jedinců.ml⁻¹ v zásobní kultuře byli vířníci přesazeni do kádinek o větším využívaném objemu, tj. 240 ml (Obr. 5B). Nejprve byly nasazovány kádinky, které byly naplněny z poloviny připravenou kultivační vodou o objemu 120 ml. Do takového objemu kultivační vody bylo nasazeno inokulum vířníků v počáteční hustotě 2 jedinci.ml⁻¹ (celkem tedy 240 jedinců vířníků). Takto mohlo být nasazeno 3–9 kádinek. V našem případě byly z kapacitních důvodů nasazeny jen tři kádinky. Po nasazení byli vířníci chováni opět při stejných optimálních podmínkách prostředí. Kádinky nasazené vířníky byly umístěny do klimatizovaného prostředí termoboxu (25 ± 1 °C) s kontinuálním 24hodinovým osvětlením o intenzitě 1 000 luxů (Obr. 5C). Vířníci byli krmeni přípravkem Nanno 3600 s denní dávkou 0,2 ml. Po sedmi dnech takového chovu se hustota vířníků zvýšila ze 2 jedinců.ml⁻¹ na 200 jedinců.ml⁻¹. Při dosažení hustoty 200 jedinců.ml⁻¹ byla kultura naředěna na polovinu, tzn. byla doplněna na dvojnásobný objem 240 ml (přidáno bylo 120 ml kultivační vody). V tomto okamžiku bylo dosaženo konečného objemu daných využitých kádinek. Konečná hustota kultury vířníků na úrovni 350 jedinců.ml⁻¹ byla dosažena v průběhu následujícího 7denního období, při kterém byli vířníci chováni v optimálních podmínkách prostředí se zvyšující se krmnou dávkou přípravku Nanno 3600 o 0,05 ml za den. Výsledkem tohoto odchovu bylo dosažení hustoty vířníků 350 jedinců.ml⁻¹ v každé kádince v využívaném objemu kultury 240 ml. V každé kádince bylo tedy vyprodukováno přibližně 84 000 jedinců vířníků. Celkem bylo ze tří kádinek získáno cca 250 000 jedinců vířníků. V tomto období byla počáteční kultura vířníků ze dvou kádinek přenesena do 2,5litrové Erlenmeyerovy baňky naplněné dvěma litry vířníkové kultury a kultivační vodou tak, že počáteční hustota kultury vířníků odpovídala 84 jedincům ks.ml⁻¹ (Obr. 5D).

Třetí kádinka byla ponechána odděleně. Její objem byl rozdělen na třetiny. Jedna třetina byla ponechána v dané kádince a 2/3 byly přeneseny do dvou uvolněných kádinek. Tímto způsobem vznikly tři kádinky s 80 ml vířníkové kultury, která byla naředěna kultivační vodou na objem 240 ml. Takto vzniklá vířníková kultura s počáteční hustotou vířníků kolem 115 jedinců.ml⁻¹ byla ještě sedm dní odchovávána odděleně při optimálních podmínkách prostředí, s denní krmnou dávkou 0,5 ml přípravku Nanno 3600. Cílem této oddělené kultivace bylo vytvoření rezervy chovu, kdyby postupně vznikající masová kultivace z nějakého důvodu na začátku zkolabovala. Po sedmi dnech, kdy tato kultura dosáhla hustoty 350 jedinců.ml⁻¹, byla v případě bezproblémové masové kultivace vířníků větší část použita ke krmení larev ryb a menší část k založení nové rezervní kultury vířníků. Tento postup se opakoval každých sedm dní.



Obr. 5. Rozmnožování zásobní kultury vířníků *Brachionus plicatilis* a jejich následující počáteční chov. Vířníci byli v zásobních kulturách nejprve chováni v 20ml zkumavkách (A), následně byli přesazeni a chováni ve čtyřech kádinkách o využívaném objemu 240 ml (B) a poté v jedné 2,5litrové Erlenmeyerově baňce o využívaném objemu 2 litrů (C). Ve všech těchto fázích chovu bylo využito kontinuální (24hodinové) osvětlení o intenzitě 1 000 luxů (D) (Foto: C. Yanes-Roca).

Jak je patrné z předchozího i následujícího textu, hustota vířníků v jakémkoliv chovu musí být pravidelně (většinou denně) kontrolována a počítána. K tomuto účelu se z jednotlivých kultivačních nádob odebírá po pečlivém promíchání kultury reprezentativní vzorek vířníkové kultury o objemu 50 ml. Tento odebraný vzorek se přenese do laboratoře, která je vybavena mikroskopem (s potřebným zvětšením 40x). Z odebraného vzorku se postupně odebírají tři podvzorky o objemu 1 ml, které se přenášejí do Sedgewick-Rafterovi počítací komůrky o přesném objemu 1 ml (Obr. 6). Když jsou vířníci přeneseni do komůrky, smíchají se s kapkou 2% roztoku SAVO, který znehybní (zahubí) vířníky v komůrce, což umožní jejich počítání. Takto se spočítají celkem tři komůrky, přičemž hustota vířníků v jednom mililitru se spočítá jako průměr těchto tří komůrek.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)



Obr. 6. Sedgewick-Rafterova počítací komůrka využívaná při zjišťování hustoty kultury vířníků (Foto: C. Yanes-Roca).

4.3. Produkce vířníků ve statickém (dávkovém) systému

Následně probíhala kultivace vířníků v tzv. statickém systému, který byl na začátku tvořen jednou 2,5litrovou Erlenmeyerovou baňkou s využitým objemem 2 000 ml s počáteční hustotou kultury 84 jedinců ks.ml^{-1} . Byly opět vytvořeny optimální podmínky prostředí, tzn.: teplota vody $24,5 \pm 0,4$ °C, salinita $25 \pm 1,8$ ppt, obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě $6,5 \pm 0,8$ mg.l^{-1} , pH $7,8 \pm 0,5$ a světelný režim: 12 h světla s intenzitou 1 000 luxů a 12 h tmy. Po 7 dnech tohoto chovu v Erlenmeyerově baňce byla hustota kultury vířníků na úrovni 408 jedinců ml^{-1} . Tato kultura byla dále přenesena do 20litrové bílé plastové nádoby (Obr. 7A) s využívaným objemem 20 litrů (2 litry vířníkové kultury a 18 litrů kultivační vody). Počáteční hustota kultury vířníků v této nádobě byla 40,8 jedinců ml^{-1} . Kultura vířníků byla jemně provzdušňována pomocí akvaristického kompresoru o příkonu 300 W. Do nádoby bylo nainstalováno akvaristické topné těleso o příkonu 150 W s termostatem nastaveným na 25 °C. V místnosti, kde byla umístěna zmíněná nádoba potažmo později další nádoby či velkokapacitní odchovný systém pro produkci vířníků, byl nastaven spínač osvětlení na 12 hodin denně od 6:00 do 18:00 h. Intenzita světla, která dopadala na hladinu vody v nádobě byla 450–650 luxů.

Jakmile hustota kultury vířníků dosáhla 200 jedinců ml^{-1} (po 4 dnech odchovu), byla přesunuta do větší plastové nádoby se skutečným využitým

objemem kultury 50 litrů (Obr. 7B). Tímto krokem byla kultura naředěna na hustotu 80 jedinců.ml⁻¹, a tím vznikl potenciál pro další růst početnosti vířníků. Po dalších 4 dnech byla dosažena hustota kultury 287 jedinců.ml⁻¹. Celková produkce vířníků v této době činila 14,35 mil. jedinců. V tomto okamžiku byla kultura rozdělena do tří 50litrových bílých plastových nádob s celkovým využívaným objemem 150 litrů a počáteční hustotou kultury 95 jedinců.ml⁻¹. V tomto období bylo dosaženo finálního celkového objemu kultury o 150 litrech. Po další 7 dnech odchovu kultura vířníků dosáhla hustoty 472 jedinců.ml⁻¹, tzn. celkové produkce cca 70,8 mil. jedinců vířníků. V tomto období bylo 100 litrů kultury (dvě nádoby) s celkovým množstvím 47,2 mil. jedinců vířníků použito k inokulaci vysokokapacitního odchovného systému vířníků využívající RAS. Zbýlých 50 litrů kultury (23,6 mil. jedinců) bylo dále použito v tomto statickém (dávkovém) odchovném systému k jejich masové produkci, a to s následujícím postupem. Kultura vířníků byla z jedné 50litrové nádoby rozdělena do tří nádob o jednotném objemu 50 litrů (celkem do 150 litrů). V tomto systému byla počáteční hustota kultury 157 jedinců.ml⁻¹, přičemž za 5 dní byla dosažena konečná hustota mezi 400 a 500 jedinci.ml⁻¹ (tedy celkem opět cca 70 miliónů jedinců) stejným způsobem. V tomto okamžiku bylo započato s odběrem vířníků z tohoto systému pro výživu larev candáta obecného. Jedenkrát za 4–6 dní mohlo být ze 70 miliónů odebráno poloviční množství vířníků, tzn. 35 miliónů, což je 7 miliónů vířníků denně. Toto množství vířníků postačovalo pro odchov 50 tisíc larev candáta obecného.

Při tomto chovu bylo denně z využitých kontejnerů vyměněno minimálně 20–25% vody. Vířníci byli krmeni přípravkem Nanno 3600 v denní dávce 2 ml na 1 milión jedinců vířníků.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)



Obr. 7. *Produkce vířníků ve statickém (dávkovém) systému v Laboratoři intenzivní akvakultury, Fakulty rybářství a ochrany vod, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Na obrázku je možné vidět dva typy odchovných kontejnerů s objemem 25 litrů (A) a 50 litrů (B). Oba typy kontejnerů jsou vybaveny vypouštěcím kohoutem pro odběr vířníků (C). Současně jsou uvnitř 25litrového kontejneru zavěšeny speciální pruhy bílé, filtrační plastové tkaniny jemné struktury, která slouží k zachycení nerozpuštěných látek v průběhu odchovu (D). Větší kontejnery pro statický systém (v našem případě 50litrové nádoby) je možné propojovat centrálním výpustním potrubím (E), které usnadňuje odběr vířníků z těchto nádob (Foto: C. Yanes-Roca).*

4.3.1. Souhrnný obecný postup při produkci vířníků ve statickém (dávkovém) systému

Začátek chovu vířníků ve statickém systému je spojený s počátečním chovem vířníků o objemu 2 litrů při hustotě kultury vířníků 50–100 jedinců.ml⁻¹. V tomto období jsou chováni v objemu dvou litrů do navýšení hustoty kultury na 400–500 jedinců.ml⁻¹ (toto období většinou trvá 7 dní). Následně jsou tyto dva litry vířníkové kultury přeneseny do větší nádoby (většinou s využívaným objemem 20 litrů). Tím dojde k naředění hustoty na hodnotu 40–60 jedinců.ml⁻¹ s novým potencionálním prostorem pro růst. Za cca 4–6 dní se hustota kultury zvýší na cca 200 jedinců.ml⁻¹. V tomto okamžiku je nutné opět kulturu naředit a přenést ji do objemu 50 litrů, čímž se její hustota sníží na úroveň přibližně 80 jedinců.ml⁻¹. Po cca 4–6 dnech se hustota kultury opět zvýší na cca 300 jedinců.ml⁻¹. V tomto okamžiku musí být tato kultura opět naředěna do objemu cca 150 litrů, čímž se hustota kultury sníží přibližně na 100 jedinců.ml⁻¹. Po dalších sedmi dnech chovu je dosažena konečná hustota kultury vířníků

400–500 jedinců.ml⁻¹ a finální produkce činí 70–75 miliónů vířníků. V tomto okamžiku může být až polovina vířníků (35 miliónů vířníků) využívána jedenkrát za pět dní ke krmení 50 000 ks larev candáta obecného či jiných druhů ryb, tzn. každý den z dané kultury může být odebráno přibližně 7 mil. vířníků. Tato finální fáze produkce vířníků může být realizována až po dobu 16 dní. Jestliže si uvědomíme, že odchov larev candáta obecného v kontrolovaných podmínkách krměných vířníky trvá přibližně 8 dní (od 5. do 12. dne po vylíhnutí larev z jiker), tak popsaný systém svou produkcí vířníků poskytl výživu celkem dvěma cyklům odchovu larev candáta obecného. Jednalo se tak celkově o možnost odchovávat 100 tisíc larev candáta obecného v kontrolovaných podmínkách.

Samozřejmě vířníci mohou být v menším objemu zkrmováni už v dřívějších fázích chovu, čímž se prodlouží období produkce a využívání vířníků k chovu larev candáta obecného až o dalších 8 dní (jeden celý odchovný cyklus larev), ale v tomto případě je produkce vířníků méně stabilní a nevyrovnaná. Což znamená, že ji může provozovat jen zkušený chovatel a producent vířníků.

4.4. Kontinuální produkce vířníků ve velkokapacitním systému využívající RAS

Ve statických (dávkových) systémech dochází při odchovu vířníků ke kolísání hustoty kultury vířníků z nízkých (40–100 jedinců.ml⁻¹) na poměrně vysoké hustoty (400–500 jedinců.ml⁻¹). Ve vysokých hustotách dochází ke zhoršení kvality vody (kultivačního média), a zvyšuje se tak i riziko výskytu stresujících podmínek (vysoký obsah celkového amoniaku; pH pod 7,5; vysoký obsah organických látek potažmo vyšší biomasa bakterií atd.), což vede ke snížené produkci vířníků. To je důvod, proč se začaly v produkční akvakultuře uplatňovat velkokapacitní systémy chovu vířníků využívající RAS. Tyto systémy slouží ke kontinuální, masové a vyrovnané produkci vířníků. Jejich cílem je produkce stovek miliónů až miliard jedinců vířníků denně až týdně. Snahou těchto systémů je udržovat vyrovnanou kvalitu vody, a tak eliminovat stresující podmínky, které by mohly snížit rychlost růstu či reprodukci vířníků. Stresující životní podmínky v chovu vířníků mohou totiž změnit způsob rozmnožování z partenogenetického na bisexuální (pohlavní). V takovém případě se vylíhnou v kultuře samci, dojde ke kopulaci se samicemi a následná produkce trvalých vajíček zastaví produkci kultivovaných vířníků. V takovémto chovu tak může dojít k dlouhodobému výpadku produkce živé potravy pro odchovávané larvy ryb, což může způsobit sníženou efektivitu a rentabilitu daného chovu.

V rámci chovu vířníků ve velkokapacitním systému využívající RAS v kontrolovaných podmínkách prostředí bylo dosaženo velmi slibných produkčních výsledků. Technika kultivace ve vysokokapacitních systémech

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

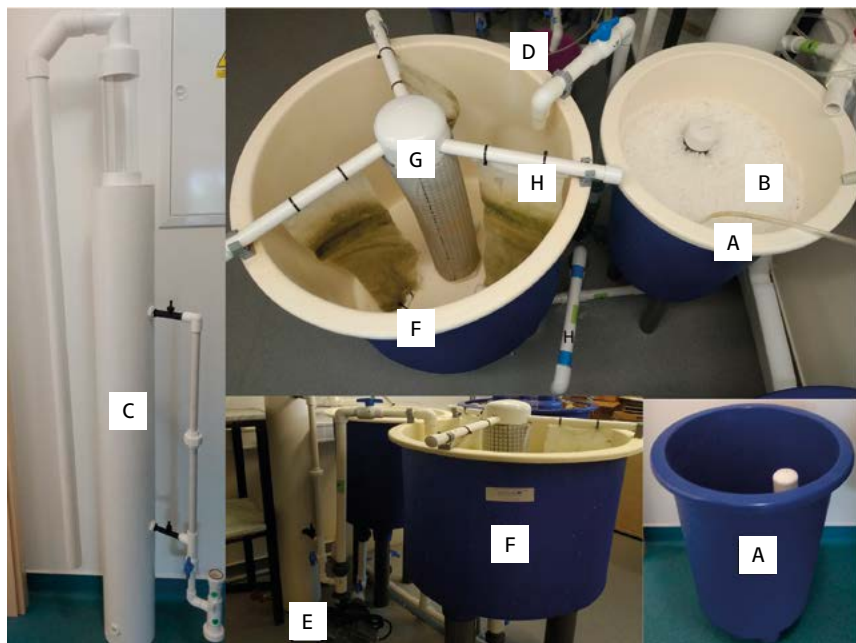
s trvale udržitelnou vysokou hustotou kultury vířníků má stejné principy jako statická dávková produkce. Rozdíl mezi oběma systémy je ten, že zatímco v dávkovém systému se každý 4.–7. den mění hustota chované kultury, tak ve vysokokapacitním systému nikoliv. Hustota kultury vířníků je tak víceméně stabilní, bez jakéhokoliv negativního vlivu na fyziologii, rozmnožování a produkci chovaných vířníků (Hagiwara a kol., 1995 a,b; 2017).

Během ověřování této technologie byl pro masovou kontinuální produkci vířníků testován speciálně vyvinutý kompletní velkokapacitní systém využívající RAS, který je dodáván firmou PENTAIR z USA. Tento systém se skládá z biofiltru (objem 50–70 litrů; Obr. 8A) vybaveného filtračním médiem (bioelementy) a efektivním provzdušňováním (Obr. 8B), z odpěňovače volně rozpuštěných bílkovin ve vodě (tzv. protein skimmer; Obr. 8C), z přítokového, odtokového a sběrného potrubí (Obr. 8D), z oběhového čerpadla o příkonu 500–800 W (Obr. 8E), které zajišťuje koloběh vody systémem, a z odchovné nádrže (Obr. 8F). Odchovná nádrž byla v centrální části vybavena přepadem vody, který byl tvořen plastovou perforovanou trubkou pokrytou jemným uhelonem (mřížkou) o velikosti ok 50 μm zabraňující úniku vířníků z odchovné nádrže (Obr. 8G). Tato mřížka musela mít dostatečný povrch, aby nedocházelo k jejímu zanesení a přetečení vody z nádrže mimo odchovný systém. Zároveň musí být tato mřížka minimálně denně (při zastavení průtoku vody systémem) vyměňována a čištěna. Výměna a čištění uhelonové mřížky je většinou spojená s odpouštěním vířníkové kultury z nádrže, při jejím zkrmování či nasazování do jiné kultury. Do odchovné nádrže pro vířníky se také zavěšují 2–4 kusy pruhů bílé, plastové tkaniny jemné struktury o šířce 30–40 cm a délce 50–60 cm. Tyto pruhy slouží v odchovné nádrži jako mechanický filtr, který zachytává větší nerozpuštěné částice, jako je detrit, shluky bakterií a řas (Obr. 8H). Díky tomuto systému může být kultivační voda (médiu) pro odchov vířníků využita opakovaně po dobu více jak 30 dní (optimálně 45 dní) s přibližnou denní výměnou vody na úrovni 10 %.

Celkový objem kultury vířníků v odchovné nádrži ve zmíněném velkokapacitním systému byl 150 litrů (Obr. 8F). Jakmile byl systém nasazen dvěma nádobami s kulturou vířníků čítající 100 litrů o hustotě vířníků 472 jedinců. ml^{-1} , bylo hned od začátku do systému nasazeno 47,2 mil. vířníků, takže počáteční hustota kultury vířníků byla 314,6 jedinců. ml^{-1} . Po 7 dnech odchovu při optimálních podmínkách chovu a denní krmené dávce 2 ml přípravku Nanno 3600 na 1 milion vířníků bylo dosaženo průměrné hustoty kultury 700 ks. ml^{-1} . To znamená, že bylo tímto systémem v daný okamžik vyprodukováno 105 milionů jedinců vířníka *Brachionus plicatilis*.

V této fázi chovu byl zahájen kontinuální odběr vířníků, kteří byli předkládáni larvám candáta obecného. Denně bylo odebráno 15 litrů kultury

o celkovém množství vířníků zhruba 10,5 miliónu jedinců. Toto množství stačilo na odchov 100 tisíc larev candáta obecného. Odebraný objem kultury vířníků byl v odchovném systému okamžitě nahrazen stejným objemem čisté kultivační vody, která splňovala optimální jakostní parametry pro chov vířníků. Tento RAS byl schopen dodávat vířníky k odchovu larev candáta po dobu až 40 dnů. Pokud by se larvy candáta obecného v RAS krmily po stejně dlouhé období jako při produkci ve statickém systému (tzn. 8 dní), poskytli by zmíněný systém výživu pro celkem pět cyklů odchovu larev tohoto druhu ryby. Jednalo by se tak celkově o možnost odchovávat 500 tisíc larev candáta obecného v kontrolovaných podmínkách.



Obr. 8. Masová kontinuální produkce vířníků ve speciálním velkokapacitním systému využívající RAS od firmy Pentair (USA) skládající se z: biologického filtru (A), filtračního média a jeho provzdušňování (B), odpěňovače volně rozpuštěných bílkovin tzv. protein skimmeru (C), přítokového, odtokového a sběrného potrubí (D), oběhového čerpadla (E), odchovné nádrže (F), přepadem vody z odchovné nádrže, která byla tvořena plastovou perforovanou trubkou pokrytou jemným uhelonom (mřížkou) o velikosti ok 50 μm (G), pruhů bílé plastové tkaniny jemné struktury o šířce 30–40 cm a délce 50–60 cm využívané jako mechanická filtrace v odchovné nádrži (H) (Foto: C. Yanes– Roca).

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

4.4.1. Odběr vířníků z velkokapacitního systému

Odběr vířníků z velkokapacitního systému byl prováděn u dna odchovné nádrže vypouštěcím kohoutem (Obr. 9). Vypouštěná kultura vířníků byla filtrována přes sítky z uhelonové tkaniny o velikosti ok 50 μm . Sítky byly při filtrování ponořené v kbelíku, aby nedocházelo k mechanickému poškozování vířníků a tím k znehodnocení krmné kultury. Poškozené jedince nelze zkrmovat, neboť se již ve vodě nepohybují a následně se rozpadnou. Navíc, obecně je doporučováno odebírat a manipulovat s vířníky pouze ve vodě. Také provzdušňování vody v průběhu filtrace snižuje riziko jejich poškození. Zároveň by ale aerace vody neměla být příliš silná, aby se zabránilo uvíznutí vířníků v jemných uhelonových tkaninách. Mechanické poškození odebraných vířníků je kritickým krokem také pro průběh a efektivitu obohacování tzv. bioenkapsulací vířníků o prospěšné látky. Je nezbytné, aby vířníci byli živí a normálně se pohybovali. Pohyb vířníků totiž stimuluje příjem potravy u larev, což následně zlepšuje jejich růst a míru přežití (Sakakura, 2017).

Vířníci byli odebíráni z RAS jednou denně. Obvykle se začínalo s odběrem mezi 7. až 8. hodinou ranní a odběr byl dokončen zhruba v 8.30 h. Samotný odběr trval asi 20 minut a byl vždy proveden následujícím způsobem:

1. Celý odběr kultury vířníků tvořil 15 litrů z celkového 150litrového objemu kultury. Případně jiný odlišný objem odebrané kultury byl spočítán s ohledem na hustotu chovaných vířníků z předchozích několika dní. Optimálně měla hustota chovaných vířníků dosahovat 500–700 jedinců. ml^{-1} . Pokud byla zjištěna nižší hustota chovaných vířníků než 500 vířníků. ml^{-1} , znamenalo to, že rychlost růstu a reprodukce chovaných vířníků byla nižší. V tomto případě bylo odebráno menší množství kultury vířníků, než bylo původně plánováno (15 litrů). V tomto případě chybějící množství vířníků pro chov larev candátů musel být doplněn ze statického systému. Snahou bylo udržovat u odchovávaných larev candáta obecného koncentraci vířníků zhruba na úrovni 6–10 jedinců. ml^{-1} (Imentai a kol., 2019a).

2. Před vlastním odběrem byli vířníci v odchovné nádrži jemně promícháni, aby byli v nádrži rovnoměrně rozmístěni a bylo možné odebrat reprezentativní vzorek. Následně byli vypouštěni z nádrže přes již zmíněný kohout (Obr. 9) a přefiltrováni přes sítky, které byly vyrobené z jemné uhelonové tkaniny o velikosti ok 50 μm . Jakmile byli vířníci koncentrováni v těchto sítkách, byli převedeni pomocí kultivační vody do předem připravených transportních nádob. Už při této činnosti byli odebíraní vířníci adaptováni na nižší salinitu a teplotu vody s cílem vysazovat vířníky do odchovných nádrží s larvami candáta, které byly chované při teplotě vody 17–20 °C a salinitě 2–4 ppt (Imentai a kol., 2019b).

3. Po odběru vířníků byla voda v odchovných nádržích nahrazena novou čistou kultivační vodou, aby byly zachovány ideální podmínky pro jejich růst. Koncentrace celkového amoniaku, dusitanů a dusičnanů byly vždy kontrolovány před výměnou vody a po ní podle Policar a kol. (2018). Koncentrace celkového amoniaku a dusitanů byla udržována na hodnotách 1–3 mg.l⁻¹ a dusičnanů kolem 100–150 mg.l⁻¹. Každý den bylo vyměněno cca 10–20 % celkového objemu kultivační vody v nádrži s kulturou vířníků. V této výměně byl zahrnut především objem vody (15 litrů = 10 %), který souvisel s odběrem vířníků na krmení larev ryb.

4. Filtrační pruhy z bílé jemné plastové tkaniny, které byly zavěšovány v odchovné nádrži, byly vyjmuty a pečlivě vyčištěny po každém odběru vířníku z odchovné nádrže. Filtrační pruhy byly vyjmuty z nádrže a opláchnuty od všech nečistot proudem teplé pitné vody s cílem odstranit všechny přítomné nečistoty. Poté byly tyto filtry vráceny zpět do nádrže. Středová uhelonová mřížka, která zamezovala úniku vířníků z kultivační nádrže, byla pravidelně denně vyměňována a čištěna. Po jejím důkladném opláchnutí a následném vyschnutí po dobu jednoho dne, bylo možné tuto mřížku v odchovné nádrži opětovně použít.

5. Po odběru vířníků z odchovné nádrže či také ze statického systému bylo vždy důležité adaptovat vířníky v průběhu jedné až dvou hodin na nižší teplotu (17–20 °C) a salinitu vody (2–4 ppt), tzn. na podmínky v odchovných nádržích, kde se odchovaly larvy candáta obecného. K prvnímu snížení teploty o 2–3 °C (na 22–23 °C) a salinity vody o 10 ppt (na 15 ppt) došlo ihned při odběru a transportu vířníků z jejich odchovných nádrží (viz bod 2 této kapitoly). Následně přidáváním vody ze systému, kde byly odchovány larvy candáta, do kbelíku s odebranými vířníky, došlo v průběhu další hodiny k postupnému snížení teploty na 17–20 °C a salinity vody na 2–4 ppt. Po této aklimatizaci byli vířníci přímo vysazováni do nádrží s larvami candátů.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)



Obr. 9. Detail vypouštěcího kohoutu sloužícího k odběru vířníků z odchovné nádrže pro masovou produkci vířníků (Foto: C. Yanes-Roca).

4.5. Odkrm larev candáta obecného pomocí vířníků

Vířníci z obou systémů byli využíváni k experimentálnímu intenzivnímu chovu larev candáta obecného. Cílem bylo porovnat efektivitu: (1) využití vířníků produkovaných statickým a kontinuálním způsobem a (2) intenzivního chovu larev candáta obecného v RAS s použitím vířníků nebo bez nich, včetně porovnání efektivity následného odchovu a produkce juvenilních ryb. Cílem předkládání vířníků do odchovných nádrží s larvami candáta obecného bylo poskytnutí vhodné živé potravy na začátku jejich exogenní výživy. Tato potrava je pro larvy candáta optimální jak z hlediska velikosti a způsobu pohybu, tak i nutričního složení. Larvy candáta pak následně vykazují výrazně vyšší míru přežití (Yanes-Roca a kol., 2018; Imentai a kol., 2019a,b; 2020). Obecná pravidla týkající se využití vířníků pro odchov larev candáta jsou na základě zkušeností získaných v rámci této publikace a zveřejněných ve výše uvedených publikacích shrnuty následovně:

1. Jednu hodinu před krmením larev candáta vířníky *Brachionus plicatilis* je nutné vířníky odebrat z odchovných nádob či nádrže velkokapacitního systému, kde probíhá masová kultivace vířníků. Při odběru z chovu musí být produkovaná kultura vířníků rovnoměrně promíchaná, aby byl odebraný vzorek reprezentativní. Následně jsou vířníci při manipulaci a před vlastním zkrmením uchovávaní až jednu hodinu v plastových nádobách (vědrech), kde se adaptují na sníženou teplotu (17–20 °C) a salinitu vody (2–4 ppt). Objem kultury v odchovných nádobách či nádržích je zpětně doplněn novou,

předem připravenou kultivační vodou na požadovaný konečný objem. Poté je zkontrolována aktuální hustota kultury vířníků v odchovných prostorech a v odebraném objemu kultury vířníků, který je určen ke zkrmení larvám. Tímto způsobem má chovatel přehled o skutečném zkrmovaném množství vířníků (jedinci.ml⁻¹) larvám candátů.

2. Při stanovení produkčních nákladů na chov vířníků a při porovnávání efektivity chovu larev candáta s použitím vířníků a bez nich byly larvy candáta odchováány v šesti odchovných černých kruhových nádržích o celkovém objemu 333 litrů napojených na experimentální RAS v jedné experimentální odchovné místnosti (Obr. 10). Počáteční hustota při nasazení larev candáta byla 100 ks.l⁻¹.

3. Celkový odebraný objem z kultury vířníků byl rovnoměrně rozdělen do tří až šesti plastových věder s jemným vzduchováním, kdy bylo každé vědro určeno pro krmení jedné nádrže s larvami candáta obecného. Před vlastním krmením byli vířníci zadaptováni na nižší teplotu a salinitu vody rovnoměrně rozptýleni pomalým kroužením vědrem, pak byli aplikováni do odchovné nádrže s larvami candáta obecného.

4. Krmení probíhalo třikrát denně (v 9.00, 13.00 a 16.00). Larvy candáta byly vířníky krmeny tak, aby v odchovných nádržích byla dlouhodobě udržována hustota vířníků na úrovni 6–10 jedinců.ml⁻¹. Tato hustota byla v každé nádrži kontinuálně udržována po dobu 8 dní při zvýšené salinitě vody (2–4 ppt). Vyšší salinita vody pomohla zvýšit pohyblivost a přežití vířníků přidávaných ke kultuře larev candátů. Díky tomu byli vířníci atraktivnější pro larvy candáta a využití vířníků tak bylo mnohem efektivnější, což se projevilo především vyšším přežitím larev candátů. Podobných výsledků bylo také dosaženo v publikacích: Imentai a kol. (2019a,b) a Yanes-Roca a kol. (2018).

5. Zmíněná hustota vířníků (6–10 ks.ml⁻¹) je považována za optimální pro růst a přežívání larev candáta od 5. do 12. dne po vylíhnutí. Později výživová a energetická hodnota vířníků larvám candáta obecného nestačí, a proto se od 13. dne po vylíhnutí předkládá larvám kombinovaná potrava složená z vířníků (5–7 jedinců.ml⁻¹) a naupliových či metanaupliových stadií žábřonožky solné (5–7 jedinců.ml⁻¹), a to do 17.–18. dne. Od 18.–19. dne po vylíhnutí do 25. dne po vylíhnutí se využívá krmení žábřonožkou solnou v kombinaci se startérovým krmivem o velikosti 150–250 μm (většinou krmivo Otohime nakoupené od firmy Pacific Trading Aquaculture, Irsko). Od 25. dne po vylíhnutí přecházejí larvy na denní krmnou dávku tvořenou výlučně umělými startérovými krmivy (Polícar a kol., 2019).

6. Ze získaných zkušeností spojených s aplikací vířníků ve výživě larev candáta obecného v intenzivní akvakultuře využívající RAS vyplývá naše doporučení zastavit průtok vody skrze odchovnou nádrž s larvami ryb po dobu 1–2 hodin

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

po aplikaci vířníků do nádrže. Hlavním důvodem zastavení průtoku vody v nádrži je zabránění splachu vířníků z odchovné nádrže do mechanického či biologického filtru daného RAS. To může vést k významným početním ztrátám předkládané potravy (vířníků) a logicky pak i k navýšení nároků na produkci a dávkování vířníků do chovu larev candáta obecného. Takovéto plýtvání potom také zvyšuje produkční náklady, což je nežádoucí. Tato krátká, 1–2 hodiny trvající, absence průtoku vody odchovnou nádrží nezpůsobuje v intenzivním chovu larev candáta obecného žádné problémy. Po 2 hodinách od nakrmení larev je možné opět obnovit průtok vody v nádrži s larvami na požadovanou úroveň (Yanes-Roca a kol., 2018).

7. Aplikace vířníků *Brachionus plicatilis* může během odchovu larev candáta obecného v optimálních podmínkách prostředí od 5. do 12. dne od vylíhnutí larev, výrazným způsobem zvýšit míru přežití larev, potažmo juvenilních ryb na 35–55 % s průměrem 45 ± 10 % (hodnoceno ve věku larev 53–63 dní po vylíhnutí). Juvenilní ryby candáta dosahují v tomto věku průměrné kusové hmotnosti 0,4 gramů. Oproti konvenčním chovům candáta se tak zvyšuje efektivita produkce juvenilních ryb candáta plně adaptovaných na peletované krmivo. Tyto konvenční chovy nevyužívají na začátku exogenní výživy larev vířníky, využívají ale jen naupliová stadia žábbronožky solné, kdy při tomto způsobu chovu dosahuje průměrné přežití juvenilních ryb pouze 15–20 %. Současně vzrůstá i kvalita odchovávaných ryb, 90–100 % má dobře naplněn plynový měchýř a výskyt morfologických deformit těla, jako jsou skoliózy, lordózy, zig-zag deformity či deformity čelistí, je minimální. Tento způsob odchovu larev a juvenilních ryb tedy produkčním podnikům zabývajícím se intenzivním chovem candáta obecného může v budoucnosti poskytovat zvýšenou rentabilitu a celkově vyšší zisk při odchovu tohoto, v Evropě vysoce ceněného druhu ryby.

4.6. Praktické a ekonomické zhodnocení produkce a využití vířníků v intenzivním chovu larev candáta obecného

4.6.1. Kalkulace a porovnání produkčních nákladů na chov vířníků statickým (dávkovým) a kontinuálním systémem včetně stanovení ekonomické efektivity využití vyprodukovaných vířníků v následném intenzivním chovu larev candáta obecného

V této fázi ověřování technologie bylo snahou autorského kolektivu ekonomicky vyhodnotit nákladnost produkce vířníků v obou výše popisovaných produkčních systémech. Tyto náklady byly vztaženy k množství (kapacitě) larev candáta, které bylo možné danými vyprodukovanými vířníky krmit při

intenzivním odchovu. Na závěr byl vypočteno navýšení produkčních nákladů na jednu odchovanou rybu candáta obecného o kusové hmotnosti 0,4 gramů krmenou vířníky.

Celkové náklady na produkci vířníků u statického a kontinuálního systému byly kalkulovány na realizované produkční systémy a jejich podmínky, které byly popsány v této publikaci. Tyto sumarizované produkční náklady na uvedený chov vířníků jsou uvedeny v Tab. 2. Je tedy zřejmé, že statickým systémem bylo možné za jeden produkční cyklus chovu vířníků vyprodukovat takové množství vířníků, které pokrylo odchov maximálně 100 000 larev candáta obecného. Díky produkci vířníků v kontinuálním systému byla kapacita odchovu až pětkrát větší, tzn. bylo dosaženo intenzivního odchovu až 500 000 larev candáta. Kontinuální systém je ovšem zatížen vyššími investičními a produkčními náklady v objemu produkce oproti statickému systému, který má o 96 335 Kč nižší náklady. Při srovnání výnosů z obou systémů je zřejmé, že kontinuální systém produkuje až pětkrát vyšší množství úspěšně odchovaných candátů obecných o kusové hmotnosti 0,4 gramů. Při porovnání nákladů a výnosů z obou systémů je produkce více ekonomická a rentabilnější v kontinuálním systému, který odchová jednoho candáta s průměrnou hmotností 0,4 g o 0,29 Kč levněji. Na druhé straně je nutné uvést, že tento systém je složitější a náročnější na obsluhu.

Obecně je možné statický (dávkový) odchov vířníků v rámci intenzivní akvakultury (Obr. 7) doporučit k využívání. Tento systém je možné aplikovat všude tam, kde je denně vyžadováno nižší množství produkovaných vířníků, jejichž kultura dosahuje konečných hustot kolem 300–400 ks.ml⁻¹. Tato metoda produkce vířníků je spolehlivější než extenzivní produkce vířníků ve venkovních podmínkách (např. mezokosmové systémy provozované ve venkovních betonových nádržích v Belgii; Kestemont a kol., 2015), a to zejména v zemích s mírným klimatem. Technické a technologické nároky na tento způsob odchovu a produkce vířníků jsou relativně nízké, neboť se využívají jednotlivé odchovné nádoby obvykle o objemu několika desítek či maximálně stovek litrů (Lubzens a kol., 1989).

Daleko složitější a komplexnější je masový kontinuální velkokapacitní produkční systém využívající speciální RAS pro chov vířníků. Tento způsob chovu umožňuje kontinuálně produkovat obrovské množství vířníků denně, což je výhodné pro chov larev candáta obecného v RAS čítající odchov několika set tisíc odchovávaných ryb. Avšak tato technologie je zatížena vyššími pořizovacími i provozními náklady. Z těchto důvodů si musí každý chovatel náležitě rozmyslet, jaký systém je pro jeho produkci vířníků a následně chov larev ryb provozně výhodnější.

**MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)**

Tab. 2. Podmínky produkce a souhrn nákladů při využití statického a kontinuálního systému: (a) na chov vířníků *Brachionus plicatilis* a (b) na jeden odchovaný kus candáta obecného do kusové hmotnosti 0,4 gramů krmeného na začátku exogenní výživy vířníky.

Podmínky produkce vířníků a její kapacita pro chov larev candáta	Způsob produkce vířníků	
	Statický systém	Kontinuální systém
Délka přípravy na vlastní produkci (dny)	46	53
Potřeba denní práce (h)	1,0	1,5
Možná délka provozu 1 produkčního cyklu vířníků (dny)	16	40
Délka období krmení larev candáta vířníky (dny)	8	8
Kapacita odchovu larev candáta v rámci jednoho cyklu (ks)	50 000	100 000
Počet pokrytých odchovných cyklů larev candáta (ks)	2	5
Celková kapacita odchovu larev candátů (ks)	100 000	500 000
Celkové produkční náklady na vířníky (vše v Kč)		
Odpisy	5 000	31 500
Elektrická energie	2 250	11 000
Výživa vířníků – přípravek Nanno3600	6 240	31 200
Chemikálie	2 500	7 000
Vodné a stočné	500	2 500
Spotřební materiál	2 500	5 000
Osobní náklady při kalkulaci 350 Kč.h ⁻¹ včetně odvodů	21 700	48 825
Celkové produkční náklady na produkci vířníků	40 690	137 025
Výnosy		
Přežití juvenilních candátů do kusové hmotnosti 0,4 g (%)	45	45
Celkový počet odchovaných juvenilních candátů (ks)	45 000	225 000
Průměrné produkční náklady na výživu vířníky pro jednoho odchovaného candáta do kusové hmotnosti 0,4 g (Kč)	0,90	0,61
Porovnání produkčních nákladů na jednoho odchovaného candáta o kusové hmotnosti 0,4 g mezi oběma systémy produkující vířníky (Kč)	+0,29	0

4.6.2. Porovnání efektivity intenzivního odchovu larev candáta obecného v RAS krmených vířníky ze statického systému oproti larvám krmených jen nautliemi žábřonožky solné

V této části ověřené technologie byl proveden experimentální odchov larev candáta obecného v kontrolovaných podmínkách chovu využívající RAS s cílem vyhodnotit vliv výživy vířníky na přežití odchovávaných larev, potažmo juvenilních ryb. Chov probíhal až do kategorie juvenilních ryb candáta o kusové hmotnosti cca 0,4 gramů, která odpovídá věkově tzv. kategorii rychleného plůdku. Tato kategorie candátů byla zvolena z toho důvodu, že ryby v této velikosti a věku jsou již plně adaptované na RAS a na peletované krmivo zaručující stabilní

produkcí v RAS. V návaznosti na tyto informace se autoři pokusili porovnat produkční náklady na chov larev, potažmo juvenilních ryb candáta obecného v RAS s využitím vířníků při počátku jejich exogenní výživy oproti konvenčnímu chovu larev candáta v RAS s využitím jen nauplií žábřonožky solné.

Jak již vyplývá z předchozího textu, larvy candáta byly tedy odchovávány ve dvou skupinách, kdy každá skupina byla odchovávána ve třech 333litrových černých kruhových nádržích (Obr. 10) s počáteční hustotou larev 100 ks.l⁻¹. Celkem tedy bylo na začátku v jedné nádrži odchováváno 33 300 jedinců larev, což odpovídalo přibližně 100 000 larvám v každé skupině. Obě skupiny byly odchovávány ve stejném RAS.



Obr. 10. Celkový pohled na odchovné nádrže, které byly využívány k intenzivnímu chovu larev a juvenilních ryb candáta obecného v RAS (Foto: T. Polícar).

V první skupině ryb byli v období od 5. do 12. dne po vylíhnutí předkládáni vířníci. V období od 13. do 17. dne po vylíhnutí byli vířníci kombinováni s naupliovými stadii žábřonožky solné (MIRCO Artemia cysts od firmy Ocean Nutrition, Belgie). V období od 18. do 25. dne po vylíhnutí byla kombinována naupliová stadia žábřonožky (Artemia cysts HE> 270 000 NPG od firmy Ocean Nutrition, Belgie) a startérová krmná směs Otohime A2 (150–250 µm).

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)

Od 26. dne po vylíhnutí larev candáta až do průměrné kusové hmotnosti 0,4 gramů (cca ve věku 60 dní po vylíhnutí) byla využita finální výživa larev a juvenilních ryb v podobě startérového krmiva Otohime B1 (250–250 μm) a B2 (360–650 μm).

Druhá skupina larev candáta byla ihned od začátku exogenní výživy krmena naupliovými stadii žábřonožky solné (MIRCO Artemia cysts do 12. dne po vylíhnutí a Artemia cysts HE> 270 000 NPG od 13. dne po vylíhnutí) bez jakéhokoliv využití vířníků. S následujícím podobným managementem chovu jako u první skupiny. Chov byl opět ukončen produkcí juvenilních ryb o kusové hmotnosti 0,4 gramů (cca ve věku 60 dní po vylíhnutí).

Na konci odchovu bylo u obou skupin stanoveno průměrné procento přeživších juvenilních ryb. Současně byly spočteny všechny produkční náklady na daný chov a následně produkční náklady na jednoho odchovaného juvenilního candáta obecného o kusové hmotnosti 0,4 gramů. Tyto náklady byly porovnány mezi oběma testovanými skupinami (Tab. 3).

Z této tabulky vyplývá, že celkové produkční náklady na 60denní chov ryb skupiny, kde byli na začátku exogenní výživy použiti vířníci, jsou o 39 000 Kč vyšší než náklady na produkci ryb, kde vířníci použiti nebyli. Tyto vyšší náklady souvisí především s vyššími náklady na produkci vířníků. Obecně je tento způsob chovu složitější a komplikovanější, což souvisí se zmíněnou produkcí vířníků. Avšak tato skupina vykazuje daleko vyšší procento přežití (45 %) finálně odchovaných ryb do průměrné kusové hmotnosti 0,4 gramů oproti skupině ryb, kde vířníci využiti nebyli (18 %). Toto poměrně rozdílné přežití odchovaných ryb se projevilo v rozdílném počtu získaných ryb, a to 45 000 jedinců ve vířníky krmené skupině oproti 17 500 jedincům ve skupině bez vířníků. Tato skutečnost následně ovlivnila i celkové náklady na produkci jedné odchované ryby, kdy ve skupině využívající vířníky byly tyto náklady o 5,3 Kč nižší (celkové produkční náklady 4,8 Kč.ks⁻¹) oproti produkčním nákladů u skupiny, kde vířníci využívání nebyli (celkové produkční náklady 10,1 Kč.ks⁻¹).

Tab. 3. Porovnání produkčních nákladů za 60denní intenzivní chov larev a juvenilních ryb candáta obecného (*Sander lucioperca*) do průměrné kusové hmotnosti 0,4 gramů při využití vířníků na začátku exogenní výživy larev či bez nich.

Náklady na produkci juvenilního candáta obecného o průměrné kusové hmotnosti 0,4 gramů (vše v Kč)	Způsob produkce larev	
	S vířníky	Bez vířníků
Požizovací cena 100 000 ks larev	5 000	5 000
Příprava RAS	7 500	7 500
Produkce vířníků	41 000	0
Inkubace a líhnutí žábronožky solné	6 000	8 000
Startérové krmivo Otohime	15 500	15 500
Spotřební materiál	2 500	2 500
Elektrická energie	5 000	5 000
Chemikálie	3 000	3 000
Vodné a stočné	6 000	6 000
Kyslík	7 000	7 000
Osobní náklady při kalkulaci 350 Kč.h ⁻¹ včetně odvodů	82 000	82 000
Investiční odpisy	35 000	35 000
Celkové produkční náklady na odchov	215 500	176 500
Procento přežití odchovaných ryb o průměrné hmotnosti 0,4 gramů	45	17,5
Počet úspěšně odchovaných ryb o průměrné hmotnosti 0,4 gramů	45 000	17 500
Celkové produkční náklady na produkci jednoho juvenilního candáta obecného o průměrné hmotnosti 0,4gramů	4,8	10,1
Rozdíl v produkčních nákladech na jeden odchovaný kus candáta o hmotnosti 0,4 g	0	+5,3

Na závěr této ověřené technologie lze konstatovat, že v rámci intenzivní akvakultury je možné efektivně zvládnout produkci vířníků druhu *Brachionus plicatilis* pro následující odchov larev candáta obecného. Efektivnějším systémem tohoto chovu se zdá být kontinuální masový odchov a produkce vířníků ve velkokapacitním systému využívající RAS, který je ovšem složitější na obsluhu a nákladnější na investici i provoz. Tento systém se především uplatní v chovech ryb, kde jsou vyšší nároky na množství zkrmovaných vířníků denně při delším období odchovu (potřeba řádově milionů vířníků denně při odchovu statisíců larev ryb týdně). U menších chovů larev ryb, kde se odkrmuje cca 100 000 larev týdně, se pravděpodobně více vyplatí využít statický (dávkový) systém produkce vířníků.

Využití vířníků v chovu larev candáta obecného zvyšuje celkové produkční náklady, které se ovšem efektivně a rentabilně zúročí dosažením vyššího přežívání odchovaných larev, potažmo juvenilních ryb tohoto druhu. Výsledkem jsou relativně nižší produkční náklady na jednu odchovanou rybu, což zvyšuje celkovou rentabilitu chovu.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*) A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO (*SANDER LUCIOPERCA*)

5. EKONOMICKÉ PŘÍNOSY

Zavedení produkce a využívání vířníků druhu *Brachionus plicatilis* v intenzivním chovu larev candáta obecného představuje několik produkčních (optimální nutriční složení, přijatelná velikost, vyhovující hustota a pohyb vířníků pro larvy candáta) a ekonomických výhod (snížené produkční náklady na jednu odchovanou rybu o kusové hmotnosti 0,4 gramů). Díky tomuto technologickému pokroku intenzivního chovu candáta obecného může být v budoucnosti odchovu larev potažmo juvenilních ryb tohoto druhu snazší a levnější. Následně se intenzivní chov candáta může stát snadněji realizovatelným, s vyrovnanějšími výsledky produkce (vyšší přežívání odchovávaných ryb při jejich odchovu) a současně bude tato produkce zatížena nižšími relativními produkčními náklady na jeden kus juvenilní ryby na konci 60denního odchovu. Při testovaném odchovu během této technologie, kde byly larvy candáta na počátku exogenní výživy krmeny vířníky, činil rozdíl produkčních nákladů na jednu produkovanou rybu o kusové hmotnosti 0,4 gramů 5,3 Kč v porovnání s chovem, kde vířníci použiti nebyli. Tento fakt může v budoucnosti přispět k masovějšímu rozvoji intenzivního chovu candáta obecného v ČR, tak v Evropě. To může následně zvýšit jeho produkci násadových a tržních ryb, což přispěje k vyšší diverzitě produkce sladkovodních ryb a podpoře konkurenceschopnosti rybářských podniků.

Současný ekonomický přínos této ověřené technologie spočívá především v úspoře produkčních nákladů o 5,3 Kč na jednoho juvenilního candáta obecného o kusové hmotnosti 0,4 gramů, pokud se v chovu larev při první exogenní výživě použijí uměle vyprodukovaní vířníci. Takovýchto ryb je v současné ČR celkově produkováno cca 100 000 ks ročně díky podnikům Anapartners s.r.o., Tilapia s.r.o., a FROV JU. Při tomto objemu roční produkce jde tedy o úsporu produkčních nákladů v hodnotě 530 000 Kč za rok.

6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI

Kultivace vířníků je rozšířena po celém světě. Především se využívá k produkci larev mořských druhů ryb, a to již déle jak 100 let. Tyto kultivační techniky prozatím nebyly v České republice využívány, zejména vzhledem k filozofii produkčních rybářských podniků produkovat tržní ryby především pomocí tradiční rybníční akvakultury. Vzhledem k nutnosti diverzifikovat chované tržní druhy ryb v České republice, potažmo v celé Evropě, jsou stále více uplatňovány metody intenzivního chovu ryb využívající technologii RAS. Současně jsou pro tento způsob chovu vyhledávány nové druhy ryb, které jsou potenciaálně vhodné pro rozvoj zmíněné intenzivní akvakultury.

Z tohoto důvodu se záměrná a řízená kultivace, produkce a využití vířníků může stát zajímavým technologickým pokrokem při vývoji odchovných protokolů pro nové potencionálně intenzivně chované druhy ryb, jako jsou candát obecný, mník jednovousý – *Lota lota* (Linnaeus, 1758), nebo lín obecný – *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758), a také okrasné tropické druhy, jako jsou např. neonka obecná – *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936), neonka červená – *Paracheirodon axelrodi* (Schultz, 1956), nebo další tetrovitě (čeledi Characidae) či labyrintní (podřád Anabantoidei) druhy ryb. I tyto druhy ryb jsou již v současnosti v České republice hojně produkovány s poměrně dobrým uplatněním na evropském trhu.

Z těchto důvodů je velmi výhodné popsanou technologii produkce a využití vířníků u českých chovatelů neustále propagovat a pomáhat jejímu rozvoji a optimalizaci v praxi. Cílem těchto činností je dosahovat potencionálně vyšší efektivity a rentability chovů a vyšší konkurenceschopnosti producentů. Tento technologický postup budou v České republice využívat především progresivní chovatelé ryb, kteří již nějakým způsobem produkuje či zkoušejí produkovat zmíněné vysoce ceněné druhy ryb v intenzivní akvakultuře pomocí technologie RAS. Jako první tuto technologii bude v ČR uplatňovat podnik Tilapia s.r.o.

7. SEZNAM LITERATURY

- Bentley, C.D., Carroll, P.M., Watanabe, W.O., Riedel, A.M., 2008. Intensive rotifer production in a pilot-scale continuous culture recirculating system using nonviable microalgae and an ammonia neutralizer. *Journal of the World Aquaculture Society* 39: 625–635.
- Brusca, R.C., Moore, W., Shuster, S.M., 2016. *Invertebrates*. Third edition. Sunderland, Massachusetts USA: Sinauer Associates, Inc. Publishers. pp. 613–634.
- Campillo, S., García-Roger, E.M., Martínez-Torres, D., Serra, M., 2005. Morphological stasis of two species belonging to the L-morphotype in the *Brachionus plicatilis* species complex. *Hydrobiologia* 546: 181–187.
- Dhert, P., Schoeters, K., Vermeulen, P., Sun, J., Gao, S., Shang, Z., Sorgeloos, P., 1995. Production and evaluation of resting eggs of *Brachionus plicatilis* originating from the PR of China. In: Lavens, P., Jaspers, E., Roelants, I. (Eds), *Larvi 95. Fish and Shellfish Larviculture Symposium*, European Aquaculture Society, Gent, Belgium pp. 315–319.
- Dhert, P., 1996. Rotifers. In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds), *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Fisheries technical paper 361, FAO, Rome, pp. 49–78.
- Dhont, J., Dierckens, K., Støttrup, J., Van Stappen, G., Wille M., Sorgeloos, P., 2013. Rotifers, *Artemia* and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In: Allan, G., Burnell, G. (Eds), *Advance in aquaculture hatchery technology*. Woodhead publishing, Oxford, UK, pp. 157–202.
- Epp, R.W., Winston, P.W., 1978. The effects of salinity and pH on the activity and oxygen consumption of *Brachionus plicatilis* (Rotatoria). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Phyciology* 59: 9–12.

MASOVÁ PRODUKCE VÍŘNÍKŮ (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
A JEJICH VYUŽITÍ K ODCHOVU LAREV CANDÁTA OBECNÉHO
(*SANDER LUCIOPERCA*)

- Fielder, D.S., Purser, G.J., Battaglione, S.C., 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 189: 85–99.
- Fu, Y., Hirayama, K., Natsukari, Y., 1991. Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 151: 29–41.
- Fukusho, K., Iwamoto, H., 1981. Polymorphosis in size of rotifer, *Brachionus plicatilis*, cultured with various feeds. *Bulletin of National Research Institute of Aquaculture* 2: 1–10.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365–78.
- Gatesoupe, F., 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180: 147–165.
- Hagiwara, A., Kotani, T., Snell, T.W., Assava-Aree, M., Hirayama, K., 1995a. Morphology, reproduction, genetics and mating behavior of small, tropical marine rotifer *Brachionus* strains (Rotifera). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 194: 25–37.
- Hagiwara, A., Balompapueng, M.D., Hirayama, K., 1995b. Mass production and preservation of marine rotifer resting eggs. In: Lavens, P., Jaspers, E., Roelants, I. (Eds), Larvi 95. Fish and Shellfish Larviculture Symposium, European Aquaculture Society, Gent, Belgium, pp. 314.
- Hagiwara, A., Gallardo, W.G., Assava-Aree, M., Kotani, T., Araujo, A.B., 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture* 200: 111–127.
- Hagiwara A., Kuwada H., 2004. Current status of live food culture in Japan. The Second Hatchery Feeds and Technology Workshop. Sydney, Australia, pp. 24–33.
- Hagiwara, A., Kim, H.J., Marcial, H., 2017. Mass culture and preservation of *Brachionus plicatilis* sp. complex. In: Hagiwara, A., Yoshinaga, T. (Eds), Rotifers. Springer Nature, Singapore, pp. 35–46.
- Imentai, A., Yanes-Roca, C., Malinovskyi, O., Policar, T., 2019a. Effect of *Brachionus plicatilis* density on pikeperch (*Sander lucioperca* L.) larva performance at first feeding. *Journal of Applied Ichthyology* 35: 1292–1294.
- Imentai, A., Yanes-Roca, C., Steinbach, C., Policar, T., 2019b. Optimized application of rotifers *Brachionus plicatilis* for rearing pikeperch *Sander lucioperca* L. larvae. *Aquaculture International* 27: 1137–1149.
- Imentai, A., Rašković, B., Steinbach, Ch., Rahimnejad, S., Yanes-Roca, C., Policar, T., 2020. Effects of first feeding regime on growth performance, survival rate and development of digestive system in pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 529: 735636.
- Jamali, H., Imani, A., Abdollahi, D., Roozbehfar, R., Isari, A., 2015. Use of probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and artemia (*Artemia urmiana*) enrichment: Effects on growth and survival of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, larvae. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 7: 118–125.
- Kestemont, P., Mélard, C., Held, J.A., Dabrowski, K., 2015. Culture methods of Eurasian perch and yellow perch early life stages. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds), *Biology and Culture of Percid Fishes – Principles and practices*, Springer New York, USA, pp. 265–293.

- Kotani, T., 2017a. The current status of the morphological classification of rotifer strains use in aquaculture. In: Hagiwara, A., Yoshinaga, T. (Eds), Rotifers. Springer Nature, Singapore, pp. 3–14.
- Kotani, T., 2017b. Enrichment of rotifers and its effect on the growth and survival of fish larvae. In: Hagiwara, A., Yoshinaga, T. (Eds), Rotifers. Springer Nature, Singapore, pp. 47–62.
- Kotani, T., Hagiwara, A., Snell, T.W., Serra, M., 2005. Euryhaline *Brachionus* strains (Rotifera) from tropical habitats: morphology and allozyme patterns. *Hydrobiologia* 546: 161–167.
- Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G., 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia* 186: 387–400.
- Lubzens, E., Zmora, O., Barr, Y., 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers. In: Sanoamuang, L., Segers, H., Shiel, R.J., Gulati, R.D. (Eds), Rotifera IX., *Hydrobiologia* 446/447: 337–353.
- Policar, T., Krišťan, J., Hampl, J., Blecha, M., Kolářová, J., 2018. Provozní manuál sloužící k efektivnímu provozu intenzivní akvakultury využívající RAS. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 169, 54 s.
- Policar, T., Schaefer, F.J., Panana, E., Meyer, S., Teerlinck, S., Toner, D., Žarski, D., 2019. Recent progress in European percid fish culture production technology – tackling bottlenecks. *Aquaculture International* 27: 1151–1174.
- Ogata, Y., 2017. Use of freshwater *Brachionus* for aquaculture. In: Hagiwara, A., Yoshinaga, T. (Eds), Rotifers. Springer Nature, Singapore, pp. 75–85.
- Sakakura, Y., 2017. Application of rotifers for larval rearing of marine fishes cultivated under various conditions. In: Hagiwara, A., Yoshinaga, T. (Eds), Rotifers. Springer Nature, Singapore, pp. 63–74.
- Skjermo, J., Vadstein, O., 1993. Characterization of the bacterial flora of mass cultivated *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia* 255–256: 185–191.
- Steenfeldt, S., 2015. Culture methods of pikeperch early life stages. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds), *Biology and Culture of Percid Fishes – Principles and Practices*. Springer New York, USA, pp. 295–312.
- Vanbelle, M., Teller, E., Focant, M., 1990. Probiotics in animal nutrition: a review. *Archiv für Tierernährung* 40: 543–567.
- Verdonck, L., Swings, J., Kersters, K., Dehasque, M., Sorgeloos, P., Leger, P., 1994. Variability of the Microbial Environment of Rotifer *Brachionus plicatilis* and *Artemia* Production Systems. *Journal of the World Aquaculture Society* 25: 55–59.
- Yanes-Roca, C., Mráz, J., Born-Torrijos, A., Holzer, A.S., Imentai, A., Policar, T., 2018. Introduction of rotifers (*Brachionus plicatilis*) during pikeperch first feeding. *Aquaculture* 497: 260–268.
- Yanes-Roca, C., Holzer, A., Mráz, J., Veselý, L., Malinovskyi, O., Policar, T., 2020a. Improvements on live feed enrichment for pikeperch (*Sander lucioperca*) larval culture. *Animals* 10: 401.
- Yanes-Roca, C., Leclercq, E., Veselý, L., Malinovskyi, O., Policar, T., 2020b. Use of lactic acid bacteria during pikeperch (*Sander lucioperca*) larval rearing. *Microorganisms* 8: 838.
- Yoshimatsu, T., Hossain, M.A., 2014. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. *Aquaculture International* 22: 1587–1603.

Odborný externí oponent

doc. RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Studentská 1668
370 05 České Budějovice

Odborný interní oponent

doc. Ing. Miloš Buřič, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Zátiší 728/II
389 25 Vodňany

Ověřování a uplatnění technologie 2020

Tilapia, s.r.o., Tržní 274/2, 390 01 Tábor

Adresa autorů

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské
výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybářský
a hydrobiologický ve Vodňanech, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, Česká republika,
www.frov.jcu.cz

V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých
Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany, www.frov.jcu.cz; odborný
editor: RNDr. Bořek Drozd, Ph.D.; redakce: Zuzana Dvořáková; náklad: 200 ks, 1. vydání,
vytištěno v roce 2021, grafický design a technická realizace:
Jesenické nakladatelství JENA Šumperk