

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD

DEKAPSULACE, LÍHNUTÍ A ODKRM
ŽÁBRONOŽEK RODU *ARTEMIA*

A. KOUBA, J. HAMÁČKOVÁ, P. KOZÁK

č. 94

Vodňany
2009

ISBN 978-80-85887-94-5

Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:

**Řasová biomasa jako potravní doplněk v akvakulturách ryb a raků
(2009–2011, GA0/GA, GA521/09/0656)**

**Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
(výzkumný záměr MSM6007665809)**

**Vývoj nových metod chovu vybraných perspektivních akvakulturních
druhů s využitím netradičních technologií
(MZe ČR NAZV QH71305)**

OBSAH

1. Úvod	4
1.1. Cíl metodiky	4
1.2. Vlastní popis metodiky	4
1.3. Srovnání „novosti postupů“	4
1.4. Popis uplatnění metodiky	4
2. Základní znalosti o žábřonožkách	4
2.1. Malé okénko do historie	4
2.2. Stručná biologie, distribuce a ekologie žábřonožek	5
3. Využití žábřonožek v akvakultuře	8
3.1. Dekapsulované cysty	9
3.1.1. Základní chovatelská východiska dekapulace cyst	9
3.1.2. Metodický postup při vlastní dekapulaci	10
3.1.3. Způsoby využití dekapulovaných cyst	14
3.2. Líhnutí nauplií	16
3.2.1. Základní chovatelská východiska líhnutí nauplií	16
3.2.2. Metodický postup při líhnutí nauplií	17
3.2.3. Způsoby využití nauplií	19
3.3. Odkrm žábřonožek	22
3.3.1. Základní chovatelská východiska odkrmu žábřonožek	22
3.3.2. Metodický postup při odkrmu metanauplií	25
3.3.3. Způsoby využití odkrmených metanauplií	26
4. Poděkování	26
5. Seznam použité literatury	26
6. Seznam publikací, které předcházely metodice	33

1. ÚVOD

1.1. CÍL METODIKY

Dekapsulované cysty, vývojová stádia i dospělce drobného korýše žábřonožky solné lze využít jako potravu pro larvy ryb a korýšů mořských i sladkovodních akvakultur. Cílem této metodiky je vytvořit souhrnný popis technik a nabídnout tak české chovatelské praxi přehled o možnostech použití značného potenciálu tohoto významného potravního zdroje.

1.2. VLASTNÍ POPIS METODIKY

Tato metodika se sestává z uceleného přehledu celé řady aspektů biologie žábřonožek rodu *Artemia*. Klíčovou část pak tvoří podrobný popis technik nutných ke zdárnému zvládnutí dekapulace cyst, líhnutí nauplií a odkrmování metanauplií při využití nejnovějších trendů v této oblasti.

1.3. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“

Metodiky vychází z relevantních literárních zdrojů, které jsou doplněny řadou vlastních poznatků a zkušeností získaných v průběhu dlouholetého využití těchto živočichů jakožto potravy pro plůdek ryb a juvenilní stádia raků. Stejně tak upozorňuje na některá technologická a dietetická úskalí, která je třeba mít na zřeteli při používání této potravy a nabízí rady pro jejich úspěšné překonání.

1.4. POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

V současné době neexistuje v České republice pro chovatelskou praxi dostupný literární pramen, který by uceleně popisoval možnosti využití tohoto potravního zdroje v kontextu se světovými trendy v akvakultuře. Přitom je však základna potencionálních uživatelů těchto metod značně široká a neomezuje se jen na rybářskou praxi a s ní spojený odchov plůdku hospodářsky cenných a sportovně významných druhů ryb. Důležitou cílovou skupinou jsou rovněž akvaristé. Česká akvaristická produkce se totiž svým obratem i kvalitou tradičně řadí mezi nejvýznamnější světové producenty. Zároveň lze považovat tuto metodiku za materiál, který může být také vhodně využit ke studijním účelům.

2. ZÁKLADNÍ ZNALOSTI O ŽÁBRONOŽKÁCH

2.1. MALÉ OKÉNKO DO HISTORIE

Užití žábřonožek můžeme označit za jeden z velkých milníků v historii moderní akvakultury, kdy především vylihlá nauplia byla předkládána jako živá potrava při odkrmu nejranějších plůdků různých druhů ryb. Takovýto způsob využití je znám již z třicátých let minulého století (Seale, 1933). Ve čtyřicátých letech byly cysty žábřonožek odlovovány především na přírodních solných jezerech a uplatňovaly se především na místních trzích. Od počátku padesátých let započal průmyslový odlov cyst žábřonožek na Velkém Solném jezeře v Utahu a v San Franciském zálivu (Kalifornie). V této době byla cena cyst a dalších produktů ze žábřonožek relativně nízká. Ta se však značně zvýšila v průběhu sedmdesátých let, a to z důvodu stále se zvyšující poptávky ze strany chovatelů, nižších výloveků na Velkém Solném jezeře a obchodní politiky některých produkčních firem. V návaznosti na tuto skutečnost byla celá situace diskutována na konferenci FAO (Organizace OSN pro výživu a zemědělství) v japonském Kyotu (1976) s tím, že se jedná pouze o dočasný problém, který lze překonat použitím nových metod při odlovu a výrobě v kombinaci s podporou chovu žábřonožek v rozvojových zemích (Sorgeloos, 1979). Situace v osmdesátých letech se skutečně zlepšila a to díky dodávkám z několika nových přírodních oblastí (Argentina, Austrálie, Kanada, Kolumbie, Francie a Čína) a ze zemí s cíleným chovem žábřonožek (např. Brazílie, Thajsko). Bylo však zjištěno, že kvalita těchto produktů je značně nevyrovnaná, a to nejen mezi jednotlivými místy původu, ale i mezi jednotlivými roky na týchž lokalitách (Léger a

Sorgeloos, 1984; Vanhaecke a Sorgeloos, 1980, 1982). To vedlo k úspěšnému vývoji nových technologií, které se snažily celou situaci vyřešit. V téže době byl na Velkém Solném jezeře zaveden nový způsob odlovu cyst, čímž zdejší produkce desetinásobně vzrostla a dosahovala velice vysoké kvality. Tím dokázal zdejší výlovek pokrýt více než 90 % světového obchodu (Lavens a Sorgeloos, 2000; Sorgeloos a Léger, 1992).

Mezitím však poptávka trhu exponenciálně vzrostla v návaznosti na rychlý rozvoj akvakultury. Zájem o tyto produkty byl tvořený nejen potřebami chovu plůdku ryb, ale především jejich nezbytností při odchovu krevet. Více než 80 % světové produkce bylo využito při chovu krevet, zbytek výrobků byl prodán především v Evropě, východní Asii a drobným hobby akvaristům. Tyto požadavky trhu byly pokryty z podstatné části výlovkem z Velkého Solného jezera, a to díky zvýšení počtu vydaných licencí pro odlov cyst v kombinaci s efektivními metodami odlovu a výroby. Ostatní lokality pokrývaly pouze 10 % světové produkce. Tím byl světový trh z praktického hlediska závislý pouze na jediném zdroji, což byla situace velice nepříznivá. Výlovek na této lokalitě byl totiž několikrát negativně ovlivněn celou řadou faktorů, které měly za následek značné výkyvy v produkci a podobný trend můžeme sledovat i nyní. V současné době jsou proto snahy revidovat další možné zdrojové lokality a jejich případnou produkci uplatňovat na světovém trhu. Proto se v našich obchodech můžeme setkat s širším spektrem dodávaných výrobků, které jsou například z Číny nebo Thajska (Lavens a Sorgeloos, 2000).

2.2. STRUČNÁ BIOLOGIE, DISTRIBUCE A EKOLOGIE ŽÁBRONOŽEK

Žábronožky jsou drobní koryši, kteří obývají lokality se zvýšeným obsahem soli. Nejčastěji se jedná o vnitrozemská solná jezera a přímořské laguny. Tyto lokality jsou zpravidla příliš extrémní pro jejich predátory, kterými jsou především ryby. Světová distribuce se však neomezuje pouze na tropické nebo subtropické klimatické pásmo. Nejenže je můžeme najít v širokém spektru klimatických podmínek, od oblastí velmi vlhkých (humidních) po místa velmi suchá (aridní), ale jsou známé i populace žábronožek z tibetských jezer ve výšce 4500 m n. m. (Vanhaecke a kol., 1987; Van Steppen a kol., 2001; Xin a kol., 1994).

Z pohledu druhového je tato skupina mnohem bohatší, než se dříve předpokládalo, a žábronožka solná *Atremia salina* je pouze jedním z druhů. Tento rod je totiž zastoupen partenogeneticky se množícím druhem *A. partenogenetica* s různou ploidní úrovní (2n, 3n, 4n a 5n) a osmi pohlavně se rozmnožujícími druhy, které jsou z pohledu zoogeografického do značné míry izolované. Jsou jimi *A. franciscana*, *A. persimilis*, *A. monica*, *A. salina*, *A. urmiana*, *A. sinica*, *Artemia* sp. z Kazachstánu a *A. tibetiana* (Abatzopoulos a kol., 1998; Eimanifar a kol., 2006; Triantaphyllidis a kol., 1997, 1998).

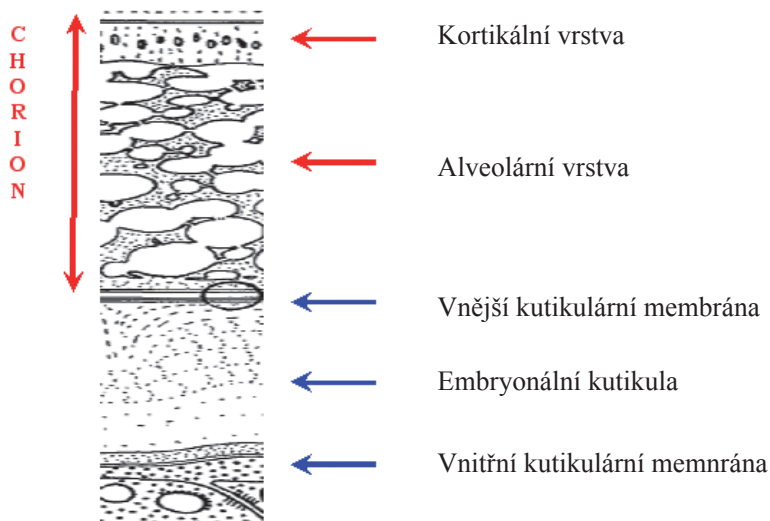
Tito živočichové jsou velice efektivními všežravými filtrátory, kteří se živí částicemi menšími než 40–60 µm. Jejich potrava se nejčastěji skládá z nevláknitých řas, rozsivek, detritu, prvků, bakterií a dalších mikroorganismů. Vylíhlá nauplia potravu nepřijímají a jsou živena ze svého žloutkového váčku. Prvním stádiem přijímajícím potravu je tzv. metanauplium. Optimální růst je u žábronožek pozorován zpravidla mezi 25–30 °C (Sorgeloos a kol., 1977a; Vos, 1979).

Žábronožky jsou typické dvěma způsoby rozmnožování. Jedná se buď o normální bisexuální rozmnožování za přispění jak samců, tak samic nebo o partenogenezi (Rodríguez-Almaraz a kol., 2006). Za vhodných podmínek prostředí pro reprodukci se z vajíček přímo líhnou živé plovoucí larvy – nauplia (ovoviviparní = vejcoživorodé rozmnožování). Jedna samice je takto schopna vyprodukovat 50–250 nauplií v jednom reprodukčním cyklu. Při nepříznivých podmínkách (velmi nízká nebo velmi vysoká salinita, nízká koncentrace rozpustěného kyslíku spojená s jeho výkyvy, nedostatek potravy atd.) se však vývoj vajíček zastavuje ve stádiu gastruly a u samic dochází k produkci trvalých vajíček – cyst. Cysty jsou pomocí specializovaných žláz v děloze matky obaleny několika ochrannými vrstvami a následně uvolněny do vodního prostředí. Jedná se tedy o oviparní = vejcorodé rozmnožování.

Z uvedeného vyplývá, že samice tedy mohou na základě podmínek vnějšího prostředí zvolit vhodný způsob reprodukce (Criel a Macrae, 2002; Vos, 1979).

Samotné cysty pak splývají na hladině, ze které jsou větrem vyhazovány na břeh, kde hromadně vysychají. V tomto stavu jsou cysty biologicky prakticky neaktivní a zastavují svůj vývoj (období diapauzy). Tento stav je možno také označit jako anhydrobiózu – kryptobiózu způsobenou extrémním nedostatkem vody vedoucí k vyschnutí organismu. Takové cysty jsou pak velmi rezistentní vůči parametrům vnějšího prostředí. Toho se účelně využívá při jejich skladování, kdy ani několikaleté skladování vakuově balených suchých cyst nemá negativní dopad na jejich líhnivost (Tunsutapanich, 1979b). Otevřené balení cyst však musí být uloženo na suchém místě a spotřebováno v co nejkratším čase. Případné zvlhnutí cyst (dlouhodobě postačuje i pouhá vzdušná vlhkost) může být příčinou až nulové líhnivosti.

Při vejcorodém způsobu rozmnožování vzniká cysta s průměrnou velikostí 200–270 μm a hmotností 3,5 μg , ve které je embryo chráněno několika vrstvami. Nejzevnější strukturou je kortikální vrstva, která společně s alveolární vrstvou tvoří vlastní chorion zárodku (bližší obr. 1). Tyto odolné vrstvy zajišťují ochranu vajíčka proti mechanickému poškození a UV záření. Jsou tvořeny různými lipoproteiny a prostoupeny chitinem a hematinem (derivát hemoglobinu), který způsobuje různé intenzivní hnědé zabarvení vajíčka. Právě tyto struktury jsou rozpustné v roztoku chlornanu sodného při procesu takzvané dekapsulace (více v kapitole 3.1.) Naopak kutikula embrya se svou vnější a vnitřní membránou jsou vůči tomuto činidlu odolné (Hajirostamloo, 2008; Sorgeloos a kol., 1977b; Vos a de la Rosa, 1980).

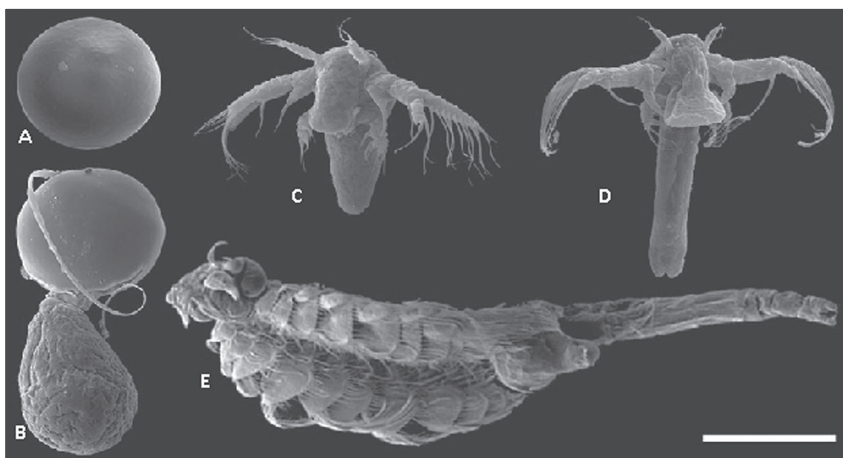


Obr. 1: Schématické znázornění ochranných vrstev trvalých vajíček – cyst. Při dekapsulaci rozpustný chorion zvýrazněn červeně. Odolné struktury značeny modře (Morris a Afzelius, 1967; upraveno).

Jak již bylo zmíněno, trvalé cysty jsou metabolicky neaktivní, a to až do doby, kdy se vytvoří optimální podmínky pro jejich vývoj. Ty jsou charakteristické především přítomností slané vody, kterou vyschlé cysty velice rychle absorbují. V kombinaci s vhodnou teplotou vody, která je dostatečně nasycená kyslíkem, přítomností osvětlení, zvýšeným pH a dalšími faktory dochází k opětovné aktivaci přerušného vývoje embrya (Lavens a kol., 1986; Lavens a Sorgeloos, 1987; Vanhaecke a kol., 1981).

Výše popsané podmínky v podstatě simulujeme při líhnutí nauplií pro chovatelské potřeby (více v kapitole 3.2.2.). Asi po dvaceti hodinách inkubace dojde k prasknutí ochranných vrstev vajíčka a objeví se líhnoucí, membránou obklopené, embryo (obr. 2 B), které je nazýváno „umbrella“. Po krátké době se tato membrána protrhne a dochází k vylihnutí volně plavajícího nauplia (obr. 2 C). V případě nasazení dekapsulovaných cyst na líhnutí je nezbytná doba inkubace poněkud kratší a líhnutí je více synchronizované (časový interval, během kterého se vylihnou většina embryí, je kratší (Van Stappen, 1996a).

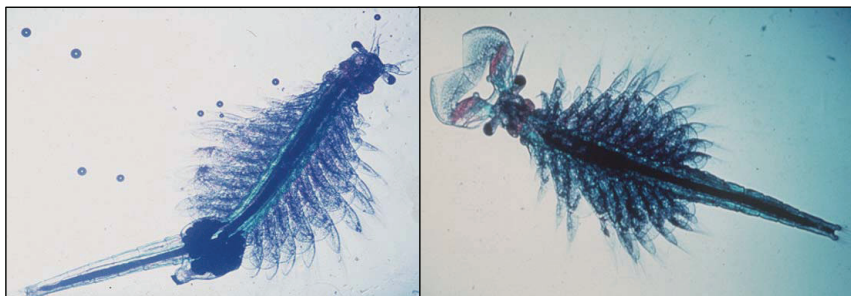
Nauplia jsou obvykle 400–500 μm velká a nepřijímají vnější potravu. Jsou živena ze zásob svého žloutkového váčku (lecitotrofní výživa), který jim propůjčuje oranžové zbarvení. Pod mikroskopem je mimo jiné dobře patrné červené (naupliové) oko, tykadélka (senzorická funkce), tykadla (pohybová a filtrační funkce) a kusadla (budoucí příjem potravy). Asi za 6–12 hodin se svléká do druhého vývojového stádia – metanauplia (obr. 2 D), které začíná pomocí filtrace neselektivně přijímat potravu o velikosti částic 1–50 μm (Van Stappen, 1996a).



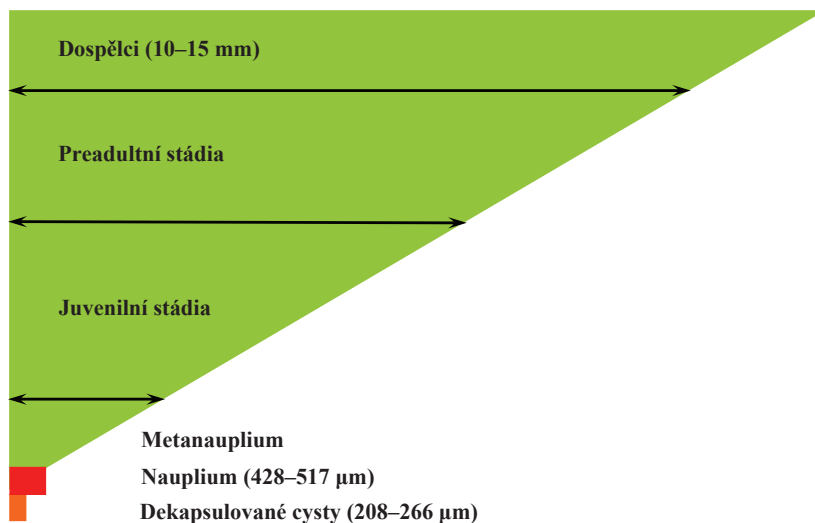
Obr. 2: Základní vývojová stádia žabronožek. **A** Cysta (po hydrataci); **B** Líhnoucí se nauplium, tzv. „umbrella“; **C** Nauplium; **D** Metanauplium; **E** Dospělec. Měřítka A = 178 μm , B = 177 μm , C = 150 μm , D = 250 μm , E = 3,5 mm. (Gostling a kol., 2009; upraveno).

Žabronožky následně procházejí řadou asi patnácti svlékání, kdy dosahují své pohlavní dospělosti (Sorgeloos a kol., 1977a). V průběhu vlastního vývoje postupně dochází k formaci páru složených očí a od desátého vývojového stádia můžeme pozorovat pohlavní dimorfismus žabronožek. Ten je představovaný především přeměnou tykadel samců na specializované háky, kterými si fixují samice při páření. U samic dochází k redukci tykadel, která následně slouží jako senzorické orgány (obr. 3). Dospělé samice jsou charakteristické přítomností dělohy, která je často vyplněna vajíčky nebo trvalými cystami (při vejcoživorodém, resp. vejcorodém rozmnožování). Samci mají párový penis (Bowen a Hanson, 1962; Tunsutapanich, 1979b; Van Stappen, 1996a). Velikost dospělců je obvykle 1–1,2 cm, jsou však známy i lokality s dospělými žabronožkami s rozměry okolo 2 cm (Vos, 1979). Některé studie uvádějí, že samice žabronožek jsou větší než samci. To bývá vysvětlováno způsobem páření těchto živočichů, kdy samice je nucena v průběhu kopulace nést na sobě přichyceného samce (Asem a Rastegar-Pouyani, 2007).

Zvětšující se velikost po sobě jdoucích stádií má velký význam z pohledu chovatele, kdy příslušná vývojová stádia mohou být jako velikostně optimální potrava předkládány odrůstajícím plůdku odchovávaných druhů ryb nebo korýšů (obr. 4).



Obr. 3 Dospělá samice (A) samec, (B) s plně vyvinutými sekundárními pohlavními znaky (Van Stappen, 1996a; převzato).



Obr. 4: Schématické znázornění velikosti u jednotlivých životních stádií žábřonožek rodu *Artemia* (Léger a kol., 1987; upraveno).

3. VYUŽITÍ ŽÁBRONOŽEK V AKVAKULTUŘE

Žábřonožky mají klíčový význam pro potřeby akvakultury (Dhont a Sorgeloos, 2002) a jsou úspěšně využívány při chovu značného počtu rybích druhů (Sorgeloos a kol., 2001), stejně jako četných korýšů (Palmegiano a Trotta, 1983; Sorgeloos a kol., 1998). Jedná se zvláště o užití dekapulovaných cyst a především nauplií žábřonožek. Stejně tak lze pro tyto potřeby využívat i další vývojová stádia či dokonce dospělé tohoto členovce. Z pohledu výživy se jedná o bílkovinnou dietu s přibližně 50–56 % bílkovin. Obsah tuků bývá zpravidla na úrovni 12–23 % a sacharidů okolo 4–17 %. Toto složení však kolísá nejen mezi zdrojovými lokalitami, ale i mezi jednotlivými životními stádii žábřonožek (Claus a kol., 1979; García-Ortega a kol., 1998; Léger a kol., 1986). Přesto však u řady odchovávaných druhů ryb a korýšů nemohou žábřonožky zcela pokrýt jejich živinové nároky a jsou tak v jednom nebo ve více faktorech výživově deficitní. Živinový profil žábřonožek však může být vylepšen použitím tzv. bioencapsulačních technik.

Na trhu jsou nabízené cysty v různých cenových relacích. Cena je ovlivněna zejména jejich kvalitou, která je dána především jejich líhivostí (%), masovostí líhnutí (líhnutí většího nauplií v průběhu několika desítek minut až desítek hodin) a velikostní vyrovnaností cyst.

3.1. DEKAPSULOVANÉ CYSTY

3.1.1. ZÁKLADNÍ CHOVATELSKÁ VÝCHODISKA DEKAPSULACE CYST

Jednou ze základních aplikací je využití dekapsulovaných cyst žábřonožek. Jedná se o proces, při kterém dojde k odstranění chorionu embrya (obr. 1), čímž se cysta stává stravitelnou a může být předkládána jako krmivo odchovávaným živočichům. Pro tyto účely se používá krátkodobá expozice hydratovaných cyst v roztoku silného oxidačního činidla – nejčastěji chlornanu sodného. Do širšího podvědomí chovatelů se tato metoda dostala na počátku osmdesátých let minulého století (Bruggeman a kol., 1979, 1980; Tunsutapanich, 1979a), ale principiálně byla známá již mnohem dříve (Slifer, 1945).

Užití dekapsulovaných cyst přináší řadu výhod. Tyto cysty jsou dezinfikované a ze zoohygienického pohledu zcela bezpečné (Bruggeman a kol., 1980; Cano a kol., 2009). Lze je snadno skladovat, proces dekapsulace je levnější, rychlejší a méně pracný než líhnutí nauplií a v případě, že nejsou přímo využity jako krmivo, je lze klasicky odlihnout s dosažením vyšší líhivosti (Van Stappen, 1996b). Pro potřeby odkrmu lze použít i cysty s nízkou tržní hodnotou, která je způsobena především jejich nízkou líhivostí. Je odhadováno, že okolo padesáti procent světové produkce spadá právě do této kategorie (Léger a kol., 1986). Nutriční hodnota těchto cyst však není dotčena (Ribeiro a Jones, 1998). Užitím dekapsulovaných cyst je zamezeno uvolňování živin z předkládaného krmiva, protože jejich vnější kutikulární membrána je stále biologicky aktivní (Dhont a Sorgeloos, 2002). Odchovávaní živočichové tedy velice dobře využívají tento potravní zdroj a zatížení vodního prostředí uvolněnými živinami z krmiva je minimální (rychlé vyluhování značného podílu živin je dobře známé především v případě suchých krmných směsí).

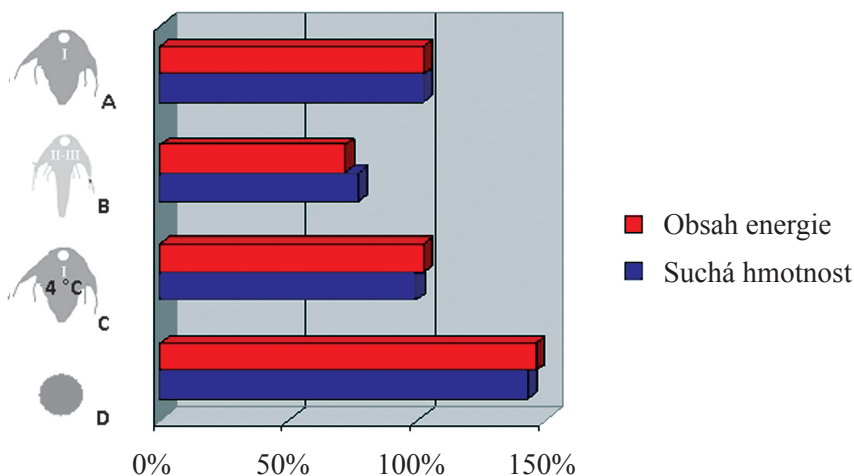
Na druhou stranu se však jedná o inertní (nepohyblivou) potravu, která může být pro některé druhy ryb méně atraktivní, a to především v prvních etapách odkrmu (Hamáčková a kol., 2008). Zároveň dochází k rychlému klesání těchto cyst na dno odchovné nádrže, kde jsou méně dostupné pro larvy ryb, jež se zpravidla živí planktonní potravou vodního sloupce. Tomu však lze částečně zamezit tím, že jsou tyto cysty před zkrmněním částečně vysušeny, čímž se doba splývání na hladině (a tím i dostupnosti pro odchovávaný plůdek) poněkud prodlužuje (Vanhaecke a kol., 1990). Z pohledu výživy je ale výhodnější využívat k odkrmu právě dekapsulovaných cyst. Energetický obsah dekapsulovaných cyst je totiž vyšší, než je tomu u čerstvě vylíhlých nauplií (Vanhaecke a kol., 1983) a nedochází tedy ke ztrátám při energeticky náročném líhnutí embrya. Z pohledu hmotnosti jsou dekapsulované cysty v porovnání s čerstvě vylíhlými nauplií o 32–50 % těžší a jejich energetický obsah je vyšší o 30–57 % (obr. 5).

Na základě výše uvedeného výčtu informací není překvapující, že dekapsulované cysty, jakožto alternativa nauplií či přísad k suché krmné směsi, byly testovány u sumecků (Bardócz a kol., 1999; García-Ortega a kol., 2000; Hung a kol., 2002; Pector a kol., 1994; Weirich a kol., 2000), kaprovitých (Harzevili a kol., 2003, 2004; Kaiser a kol., 2003; Vanhaecke a kol., 1990) i několika okrasných druhů ryb (Lim a kol., 2002, 2003; Nuñez a kol., 2008). Dekapsulované cysty byly s úspěchem užity i při chovu mořských krevet rodů *Penaeus* (Kuban a kol., 1983; Ribeiro a Jones, 1998; Stael a kol., 1995) a *Metapenaeus* (Royan, 1980), sladkovodních krevet (Bruggeman a kol., 1980), krabů (Davis a kol., 2005; Guerao a Rotllant, 2009) i raků (González a kol., 2009).

Všeobecně můžeme konstatovat, že pro odkrm je nejvhodnější využít čerstvě dekapsulovaných cyst. Byly rovněž vyvinuty i metody sušení dekapsulovaných cyst, které umožňují jejich dlouhodobé skladování. Při těchto postupech by však měla být užita relativně nízká teplota (35–40 °C), která negativně neovlivní výživovou hodnotu tohoto krmiva

(Harzevili a kol., 2003; Lim a kol., 2002; Pector a kol., 1994; Vanhaecke et al. 1990). Použití vysokých teplot má za následek denaturaci, a tím i nižší stravitelnost bílkovin. Zároveň dochází k poškození v cystách obsažených trávicích enzymů, které pomáhají především nejranějším stádiím odchovávaných ryb v prvních fázích rozvoje jejich vlastního trávení. U nesprávně ošetřených cyst také dochází ke zvýšenému výluhu živin (García-Ortega a kol., 2000; Ribeiro a Jones, 1998).

Na trhu je v současné době k dostání značné množství druhů nedekapsulovaných (určených k líhnutí) nebo již průmyslově dekapsulovaných a následně sušených cyst. Tyto se však neodlišují pouze v ceně, ale bohužel i ve své kvalitě. Ta je nejčastěji negativně ovlivněna technologickými chybami při jejich odlovu a zpracování, jako je opakovaná hydratace-dehydratace nebo pomalé sušení (Vanhaecke a kol., 1990). Zásadní dopad může mít také použití nesprávné teploty, které je popsáno výše. Z tohoto pohledu je však využití především průmyslově dekapsulovaných cyst velmi nejisté. I přes poněkud větší pracnost je právě toto jedním z důvodů k provádění vlastní dekapsulace.



Obr. 5: Porovnání obsahu energie a suché hmotnosti mezi (A) čerstvě vylihlými nauplii (1. postembryonální vývojové stádium) a (B) metanauplii (2.–3. postembryonální vývojové stádium), (C) nauplii skladovanými v chladu (1. postembryonální vývojové stádium) a (D) dekapsulovanými cystami (Léger a kol. (1987) a Van Stappen (1996b); upraveno).

3.1.2. METODICKÝ POSTUP PŘI VLASTNÍ DEKAPSULACI

Tato doporučená metodika dekapsulace cyst žábřonožek se dělí do čtyř fází (hydratace, dekapsulace, proplachování a dezaktivace) a je založena na kompilaci vlastních praktických zkušeností a literárně dostupných informací (především Delbos a Schwarz (2009), Sorgeloos a kol. (1977b) a Van Stappen (1996b)). Nahrazuje tak dříve chovatelům doporučovanou metodiku Adámkové (1999), při níž však byla spotřeba chemikálií výrazně vyšší. Spotřeba hydroxidu sodného byla dvojnásobná, u bělicího činidla se jednalo dokonce o více než čtyřnásobek v porovnání se zde popsanou technologií. Právě tato skutečnost celý proces dříve doporučované dekapsulace značně prodražovala.

Pro vlastní dekapsulaci budeme potřebovat:

1) Inkubační láhev

Jako nejvhodnější se v našich provozních podmínkách osvědčil sedimentační válec podle Imhoffa s kohoutem umístěným v laboratorním nebo jiném stojanu (obr. 6). Vlastním kohoutem válce je regulován přívod vzduchu do suspenze cyst a po ukončení dekapsulace jsou jim vajíčka artemií vypouštěna. Jako méně praktické, avšak levné, řešení (jak pro potřeby dekapsulace, tak využitelnost při líhnutí nauplií) se jeví plastové láhve od různých nápojů. U těchto postačuje odříznout jejich plastové dno a obrácené je umístit například do třilitrové či jiné sklenice (obr. 6).

2) Provzdušňovací zařízení

Pro tyto účely je vyhovující akvaristický vzduchovací motorek s rozvodem. Za předpokladu, že budeme používat inkubační láhev bez možnosti přívodu do její spodní části, je nezbytné opatřit rozvod vzduchu také aeračním kamínkem.

3) Váhy a odměrný válec

V současné době je k dostání široké spektrum velice přesných a cenově dostupných digitálních vah, jejichž váživost na úrovni 100 g lze v našich podmínkách označit za dostačující. Přesnost vážení by měla být v ideálním případě na úrovni alespoň $\pm 0,1$ g. Od uvažovaného množství potřebných cyst se také odvíjí velikost odměrného válce. Ve větších provozech si vystačíme s půllitrovým objemem. V menších provozech je vhodné použít válce přiměřeně menší.

4) Sítko

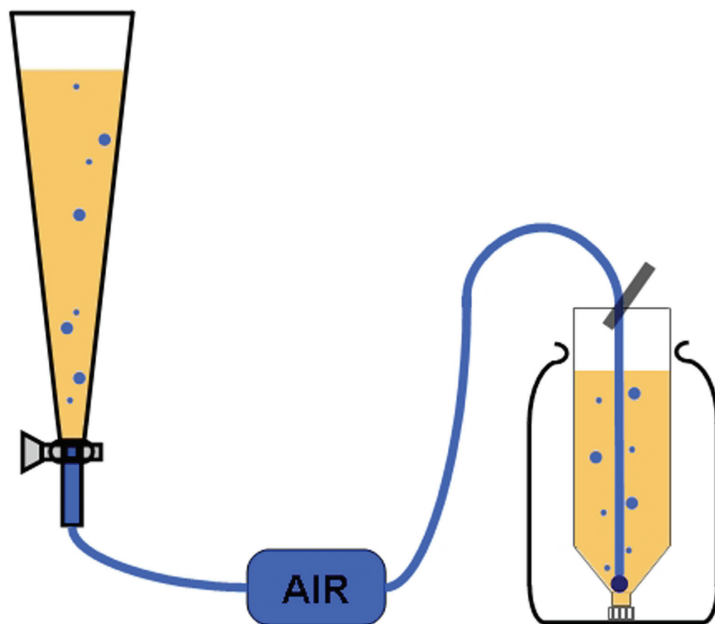
Pro scezení a proplachování cyst používáme sítko s velikostí ok 125 μm . Vlastní síťovina je zpravidla tvořena uhelonom. Měli bychom mít na paměti, že volba velikosti ok je velice důležitá. Dekapsulované cysty jsou velké přibližně 200–250 μm a příliš hrubou tkaninou by mohly unikat. Na druhou stranu může příliš hustá tkanina působit komplikace při jejich cezení a promývání. Jako velmi praktické řešení se jeví vypnutí požadované tkaniny do hrdelní části trubky odpadního systému HT (obr. 7). Na trhu je dostupných hned několik vyráběných průměrů, které se svou velikostí mohou snadno přiblížit požadavkům konkrétního chovatele.

5) Chemická činidla

Chemikálie pro vlastní dekapsulace

Savo original (Bochemie a.s., Bohumín) je 4,7–5,0% roztok chlornanu sodného (NaClO) stabilizovaného ve zředěném roztoku hydroxidu sodného. Koncentrace účinné látky je poměrně stabilní, ale postupně klesá. Ke konci doby použitelnosti je to v průměru cca 3,5–4,0 %. Důležitou podmínkou jsou proto vhodné skladovací podmínky – je třeba se vyhnout světlu a teplu, jinak je rozklad rychlejší. Za extrémně špatných skladovacích podmínek může obsah poměrně rychle klesnout i na nulu (v takovém případě se obal výrobku nafoukne). Savo original je výrobek dráždivý. Pro potřeby dekapsulace lze ze široké palety výrobků Savo použít právě a jen tento. Ostatní obsahují i další látky, které jsou z chovatelského hlediska často nebezpečné. Jedná se nejčastěji o různé povrchově aktivní látky – tensidy, mýdla, aromatické přísady a podobně. Obdobně jako Savo original je možné využít i další komerčně dostupné roztoky chlornanu sodného. Tím je možné dosáhnout určitých finančních úspor. Přesto je však tato metodika založena právě na použití Sava originál, a to především kvůli jeho všeobecné známosti a dostupnosti.

Krystalický hydroxid sodný (NaOH) je velmi reaktivní silně zásaditá látka, která je nejčastěji dodávána ve formě čoček nebo perliček. Je silně hygroskopický, a proto by měl být skladován na suchém místě. Tato látka je silně dráždivá a může způsobit těžké poplání!



Obr. 6: Schématické znázornění sedimentačního válce podle Imhoffa s kohoutem (vlevo) a plastové láhve s odříznutým dnem (vpravo) při dekapsulaci cyst, resp. líhnutí nauplií žábřonožek. V druhém případě je vhodné fixovat rozvod vzduchu ke stěně láhve kolíkem a konec hadičky osadit aeračním kamínkem.



Obr. 7: Znáznornění sítěk vytvořených z odpadního systému HT s možností použití různě jemné filtrační tkaniny (uhelonu).

Chemikálie pro dezaktivaci

Kyselina chlorovodíková je ve své koncentrované podobě (35 %) silně žíravá, působí poleptání a dráždí dýchací orgány. Zásady bezpečnosti je třeba dodržovat především při přípravě **0,1 M roztoku**, který získáme smícháním 9 ml koncentrované kyseliny a 991 ml vody. V provozních podmínkách není nutné lpět na vodě destilované. **Je však nezbytné, abychom nalévali kyselinu do vody, a ne naopak!**

Zástupně lze místo zředěného roztoku kyseliny chlorovodíkové použít také **0,1% roztok thiosíranu sodného** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), který připravíme rozpuštěním 1 g krystalického thiosíranu sodného v 1 litru vody.

Jak bylo v textu naznačeno, Savo original, hydroxid sodný i koncentrovaná kyselina chlorovodíková jsou látky, které mohou při neodborném zacházení poškodit zdraví. Proto by se mělo s těmito činidly pracovat opatrně při dodržení všech bezpečnostních zásad. Používání ochranných pomůcek by mělo být samozřejmostí.

Pracovní postup při dekapsulaci

Před započítím dekapsulace si spočítáme potřebná množství všech nezbytných činidel. Základní poměry chemikálií jsou pro samotnou dekapsulaci následující: na 1 g dekapsulovaných cyst připadá 0,5 g chlomanu sodného (v našem případě obsažen ve výrobku Savo original), 0,15 g krystalického NaOH a vlastní dekapsulační roztok je doplněn vodou tak, aby bylo dosaženo konečného poměru 14 ml roztoku na 1 g cyst.

Pro přehlednost jsou tyto hodnoty v běžném rozsahu využití uvedeny v tabulce 1. Jiné než zde uvedené hodnoty si lze aktuálně (rok 2009) vypočítat na internetových stránkách <http://www.frov.jcu.cz/dekapsulace>. Poté lze započít s celým procesem dekapsulace.

1) Hydratace

- Suché cysty hydratujeme ve 20–25 °C teplé vodě po dobu 1 h při maximální hustotě 100 g cyst na 1 litr. Lépe je však užít hustotu nižší.
- Po celou dobu udržujeme cysty v suspenzi aerací (spodním přívodem vzduchu přes kohout Imhoffa sedimentačního válce nebo umístěním vzduchovacího kamínku do dna plastové láhve. Regulujeme vzduchování tak, aby nedocházelo k nadměrnému pění. Ulpěné cysty na stěnách sedimentačního válce nebo láhve je zpočátku vhodné seškrabovat zpět do vody.
- V průběhu hydratace si do dvou kádinek (nádobek) odměříme stanovené objemy vody a Sava. V roztoku Sava necháme pozvolna rozpustit navážený hydroxid sodný – pozor, tento roztok je vůči tkáním velmi agresivní.
- Obě kádinky umístíme do mrazáku nebo alespoň lednice. Při procesu vlastní dekapsulace se uvolňuje teplo (především při dekapsulaci velkých množství cyst) a překročení teploty 40 °C by mohlo snížit jejich kvalitu. Předchozím vychlazením dekapsulačních činidel tomuto zamezíme.
- Hydratované cysty sceďíme připraveným sítkem a propláchneme vodou.

2) Vlastní dekapsulace

- Sítka s cystami obrátíme nad sedimentační válec (plastovou láhev) a opatrně je ze sítka vypláchneme roztokem Sava s hydroxidem (v Savu obsažený chloman sodný rozpouští chorion cyst, hydroxid solný udržuje proces dekapsulace v jeho reakčním optimu $\text{pH} \geq 10$).
- Vychlazenou vodou spláchneme zbytky cyst ze sítka a stěn válce (láhve).
- Stejně jako v průběhu hydratace udržujeme cysty v suspenzi vzduchováním, a to po dobu 5–15 min. Nejlépe je volit průměrnou expozici 10 min, kterou lze v případě

potřeby prodloužit. Dlouhá expozice však může způsobit snížení životaschopnosti nauplií (v případě následného líhnutí).

- d) Dekapsulované cysty secedíme připraveným sítkem. V této fázi by měly mít cysty oranžovou barvu. U některých druhů cyst je zbarvení jasně žluté.

3) Proplachování

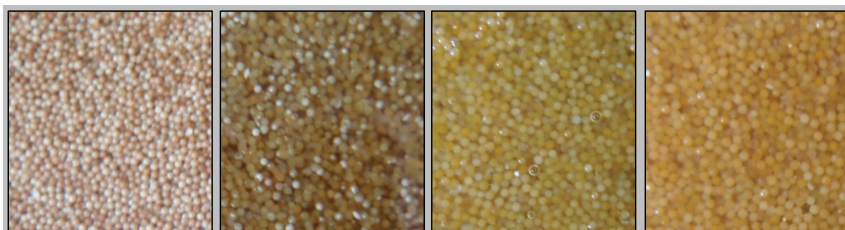
- a) Cysty proplachujeme pitnou vodou až do vymizení zápachu chloru (obvykle po 3–10 min).

4) Dezaktivace

- a) Případných reziduí chloru ulpěných na samotných cystách se lze zbavit ponořením sítky s vajíčky do roztoku 0,1 M HCl nebo 0,1 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ po dobu méně než 1 minuty. Případně postačí i prolítí těmito roztoky.
- b) Cysty opět propláchneme vodou a spodní část sítky otřeme savým papírem (např. papírovými ručníky), čímž zbavíme vajíčka přebytečné vody. Tím jsou cysty připravené k dalšímu užití.

Poznámka: skutečné provedení dezaktivací fáze dekapsulace je doporučeno, avšak v běžných podmínkách není nutné. Má se za to, že dostatečné proplachování dekapsulovaných cyst vodou samo o sobě dostatečně eliminuje rezidua chloru. Provedení dezaktivace je však vhodné provést za předpokladu, že budou cysty přímo zkrmovány citlivým druhům ryb, popř. rybkám odchovávaným v malých objemech vody bez průtoku.

Celý proces dekapsulace by měl při dodržení všech doporučených zásad (především zachování poměru cyst a reakčních činidel) vést ke kýženému výsledku. Pokud si chovatel není jistý, že provedená dekapsulace je dostatečná (například z důvodu nižší než předpokládané koncentrace chlornanu sodného v použitém činidle), měl by se řídit především změnou barvy. Cílem je dosažení oranžového zbarvení, které je patrné z obrázku 8. Pomocným indikátorem je také stav, kdy při vypnutí vzduchovacího zařízení dochází ke klesání většiny (asi 90 %) dekapsulovaných cyst na dno a pouze menšina plave v dekapsulačním roztoku nebo na jeho hladině.



Obr. 8: Změna barvy dekapsulovaných cyst. Zleva hydratované cysty následované cystami dekapsulovanými 3, 6 a 10 minut. Cílem je dosažení oranžového zbarvení, které je patrné u cyst dekapsulovaných 10 minut.

3.1.3. ZPŮSOBY VYUŽITÍ DEKAPSULOVANÝCH CYST

1) Přímé zkrmení čerstvě dekapsulovaných cyst odchovávaným živočichům

Nejjednodušší a praktický způsob, kterým lze odkrmovat drobný plůdek ryb. Velikost dekapsulovaných cyst je totiž asi poloviční v porovnání s čerstvě vylihými nauplii (obr. 4).

Hmotnost cyst (g)	NaOH (g)	Savo original (ml)	Voda (ml)
1	0,15	11	3
2	0,30	21	6
3	0,45	32	10
4	0,60	43	13
5	0,75	53	16
6	0,90	64	19
7	1,05	74	22
8	1,20	85	26
9	1,35	96	29
10	1,50	106	32
11	1,65	117	35
12	1,80	128	39
13	1,95	138	42
14	2,10	149	45
15	2,25	160	48
20	3,00	213	64
25	3,75	266	80
30	4,50	319	96
35	5,25	372	112
40	6,00	426	128
45	6,75	479	145
50	7,50	532	161
60	9,00	638	193
70	10,50	745	225
80	12,00	851	257
90	13,50	957	289
100	15,00	1064	321

Tab. 1: Potřebný poměr mezi cystami a nezbytnými činidly pro dekapsulaci.

2) Nasazení cyst na líhnutí

Vzhledem k tomu, že membrány chránící embryo nejsou procesem dekapsulace poškozeny (Spotte a Anderson, 1988), je možné tyto cysty nasadit na líhnutí. Tím je dosaženo kratší doby potřebné k vylihnutí nauplií, líhnutí je více synchronizované (doba nutná k vylihnutí většiny nauplií je kratší) a není třeba oddělovat vylihlá nauplia od nevylihých vajíček a prázdných obalů. Navíc je energetický obsah těchto nauplií vyšší v porovnání s nauplií vylihlymi z nedekapsulovaných cyst. Rovněž je možné zkrmovat směs vylihých nauplií a cyst.

3) Krátkodobé skladování v chladničce

Dekapsulované cysty lze velice snadno uchovávat v chladničce při teplotě 0–4 °C, a to po dobu až několika dní (nejlépe však ne déle než 4 dny). Pro tyto účely je nejlépe použít uzavíratelnou nádobu, čímž zamezíme osychání cyst. Následně je možné cysty přímo zkrmit nebo nasadit na líhnutí.

4) Dlouhé skladování cyst v solném roztoku

V případech několikaměsíčního skladování je nutné dekapsulované cysty opět dehydratovat, čehož dosáhneme umístěním 1 g cyst do 10 ml silně koncentrovaného

solného roztoku (koncentrace 330 g NaCl na 1 l vody). Cysty v této fázi udržujeme v suspenzi pomocí vzduchování. Po 24 hodinách je nutné tento roztok vyměnit a takto ošetřené cysty umístit do chladničky (4 °C). Tímto postupem ztratí cysty 80 % v nich obsažené vody a následně je lze skladovat po dobu několika měsíců. Pro potřeby velmi dlouhého uchování je nutné zajistit pokles vody obsažené v cystách pod úroveň 10 %. Po ukončení skladování můžeme cysty propláchnout a zkrmit nebo odlíhnout.

Poznámka: metodu dlouhodobého skladování předkládáme chovatelům pouze jako alternativu, kterou je možno využít. Přesto se však domníváme, že je výhodnější provést dekapsulaci cyst a případné líhnutí nauplií na základě aktuálních potřeb chovatele, kde je možná jejich kombinace například s postupy krátkodobého skladování.

5) Sušení dekapsulovaných cyst

Dekapsulované cysty lze také částečně vysušit, čímž zamezíme nežádoucímu klesání cyst na dno nádrže. Tím se prodlouží doba splývání na vodní hladině, a cysty budou déle dostupné pro planktonně se živící ryby. Toto je důležité především při odchovu nejranějších stádií plůdku.

Pro tyto účely použijeme rám potažený tkaninou s velikostí ok 100 µm, který umístíme do sušárny s mírnou ventilací. Sušíme při teplotě 35–40 °C po dobu 6–24 hodin. Vrstva rozprostřených cyst by neměla být silnější než 5 mm. Vysušené cysty mají červenooranžovou až cihlovou barvu. Pro potřeby dlouhodobého skladování sušených cyst je zapotřebí zajistit dokonalé vyschnutí této potravy. Toho dosáhneme prodloužením doby sušení, přičemž konečná vlhkost cyst by neměla převyšovat 10 %. Sušení cyst za účelem jejich skladování se však v praxi využívá ojediněle.

Poznámka: z chovatelského hlediska nelze zapomenout na skutečnost, že vysušení cyst sice prodlužuje dobu jejich dostupnosti pro planktonně se živícími druhy ryb, ale přináší s sebou také určité nebezpečí. Někdy bývá uváděno, že při příjmu velkého množství tohoto krmiva dochází k přeplnění trávicího traktu odchovávaného plůdku, které může po hydrataci tohoto krmiva způsobit trávicí potíže či dokonce úhyn. Chovatel tedy musí volit kompromis mezi snahou podpořit příjem krmiva a možným nebezpečím, které tento krok přináší.

3.2. LÍHNUTÍ NAUPLIÍ

3.2.1. ZÁKLADNÍ CHOVATELSKÁ VÝCHODISKA LÍHNUTÍ NAUPLIÍ

Líhnutí nauplií a jejich následné předkládání odchovávaným rybám nebo korýšům je nejčastějším způsobem užití žábřonožek v akvakultuře (Dhont a Sorgeloos, 2002). Z pohledu chovatelského se totiž jedná o krmivo, které je na trhu snadno dostupné a lze jej bez problémů skladovat několik let. Nauplia je možné dle potřeby vylihnout jednoduchým způsobem již za 24 hodin a z pohledu zoohygienického se jedná o velmi bezpečné krmivo, které je prosté nemocí. Žábřonožky jsou navíc velmi odolné vůči různorodým podmínkám prostředí a manipulaci. Pro odchovávané živočichy se navíc jedná o potravu nejen výživově relativně bohatou, ale díky svému pohybu i velice atraktivní (Léger a kol., 1987), která ve sladké vodě přežívá několik hodin (Merchie, 1996), výjimečně se může jednat o dobu až 12 hodin (Čelada a kol., 2008). Nauplia jsou také důležitým zdrojem trávicích enzymů, které jsou důležité v prvních fázích příjmu vnější potravy většiny druhů ryb (Moraiti-Ioannidou a kol., 2009). Ještě bohatší jsou z tohoto pohledu metanauplia žábřonožek, jejich výživová hodnota však je již poněkud nižší (obr. 5 B).

3.2.2. METODICKÝ POSTUP PŘI LÍHNUTÍ NAUPLÍÍ

Tato metodika líhnutí nauplií je založena na kompilaci informací, vychází z vlastních zkušeností a literárně dostupných zdrojů, kterými jsou především Merchie (1996), Treece (2000) a Van Stappen (1996b). Následující postup by měl být využitelný pro většinu komerčně dostupných cyst. Vzhledem k tomu, že se však nároky na prostředí v průběhu líhnutí mohou u některých rázů zábronožek poněkud lišit, navrhuje v těchto případech užít postupy přímo doporučené samotným výrobcem.

Pro vlastní líhnutí budeme potřebovat:

1) Inkubační láhev a akvárium

Pro tyto účely využijeme snadno dostupné PET láhve, kterým uřízneme dno. Následně je v obrácené poloze umístíme do akvária (nebo jiné nádoby), kde je vhodně upevníme. Pro tuto potřebu lze využít např. speciálně vyrobený kryt akvária s vyříznutými otvory pro láhve (obr. 9). V závislosti na požadovaném množství vylíhlých nauplií lze využít různé velikostní obdoby tohoto systému (například i Zugske láhve). Používané inkubační láhve by však měly mít kónické dno. Pro inkubaci malých objemů cyst postačuje postavit inkubační láhev do stojanu, jehož funkci snadno zastoupí obyčejná sklenice (obr. 6).

2) Akvaristické topítko a čerpadlo

Akvárium s láhvemi by mělo být osazeno akvaristickým topátkem s termostatem pro dosažení potřebné teploty. Tu je dobré zároveň sledovat kontrolním, nejlépe lihovým, teploměrem. Udržení identické teploty na všech místech akvária lze zajistit malým akvaristickým čerpadlem (obr. 9), případně větším vzduchovacím kamenem. Bez tohoto vybavení se však můžeme za určitých okolností obejít, a to za předpokladu, že budeme provádět inkubaci v místnosti, která je vytemperovaná alespoň na 26 °C (v případě některých odchoven tropických druhů ryb tomu tak je). Nižší teplota prostředí by znamenala pokles teploty inkubačního roztoku pod 25 °C, a s tím související zhoršené výsledky líhnivosti.

3) Provzdušňovací zařízení

Stejně jako v případě dekapsulace je nutné udržovat cysty a líhnoucí se nauplia v suspenzi. Budeme tedy potřebovat vzduchovací motorek s rozvodem a kamínkem. Vhodné je hadičku fixovat k láhvi a zamezit tak jejímu nechtěnému vypadnutí. Toho můžeme jednoduše dosáhnout kolíkem na prádlo (obr. 6).

4) Sedimentační láhev

Nejlépe je pro tyto účely používat sedimentační válec podle Imhoffa s kohoutem umístěným v laboratorním nebo jiném stojanu. Principiálně však postačuje jakákoliv láhev s kónickým dnem. Tímto zařízením oddělíme vylíhlá nauplia od nevylíhlých cyst a prázdných obalů. Tomuto kroku se můžeme vyhnout při líhnutí již dekapsulovaných cyst.

5) Digitální váhy

Pro navážení potřebných množství cyst a chemikálií budeme potřebovat váhy (viz potřeby pro dekapsulaci – kapitola 3.1.2.).

6) Sítko

Pro scezení vylíhlých nauplií je nezbytné sítko. Velikost ok použité síťoviny by měla být 125–150 µm.

7) Chemická činidla

Pro líhnutí budeme potřebovat kuchyňskou sůl bez přídavku jódu (NaCl) a jedlou sodu – hydrogenuhličitan sodný (NaHCO₃).

Pracovní postup při líhnutí

- 1) Do inkubačních láhví umístěných v akváriu nebo v dostatečně vytemperované místnosti nalijeme odstátou pitnou vodu, a to asi do 4/5 jejich celkového objemu. Inkubační láhve tedy nenaplňujeme až po okraj. V průběhu líhnutí se totiž může objevit částečné pění a inkubační láhve by následně přetekly.
- 2) Vodu v inkubačních láhvích silně provzdušňujeme. Obsah ve vodě rozpuštěného kyslíku by nikdy v průběhu líhnutí neměl klesnout pod koncentraci 4 mg.l^{-1} .
- 3) Teplota vody by měla být po celou dobu inkubace $25\text{--}28^\circ\text{C}$.
- 4) Do vody přidáme kuchyňskou sůl, a to v množství $20\text{--}25 \text{ g}$ na 1 l itr.

Poznámka: V průběhu líhnutí embryo produkuje glycerol, který na základě osmózy přijímá vodu a po dosažení dostatečného vnitřního tlaku dochází k prasknutí obalů vajíčka, tj. líhnutí nauplia. Při použití vyšších koncentrací soli (někdy je doporučováno až 35 g.l^{-1}) je osmotický tlak prostředí vyšší a embryo je tedy nucené vyprodukovat více glycerolu. To má za následek, že doba potřebná pro inkubaci je delší a vylíhlé nauplium je energeticky chudší. Muselo totiž vynaložit více energie na produkci glycerolu potřebného pro úspěšné líhnutí.

- 5) Pro celou dobu líhnutí je nezbytné udržovat pH na $8\text{--}8,5$ (pH pod $6,5$ zvyšuje mortalitu nauplií). Mírně alkalickou reakci zajistíme přidáním až 1 g jedlé sody na 1 l itr.

Poznámka: pH reakce pitné vody je na mnoha místech mírně alkalická a sama o sobě dokáže tyto podmínky vytvořit. Je však vhodné, aby si chovatel provedl měření pH na konci inkubace při použití jemu dostupné vody a v případě potřeby následně používal přiměřené množství sody. I bez provedení tohoto měření můžeme doporučit malý přídavek sody na úrovni několika desetin gramu sody do každého litru inkubačního roztoku.

- 6) Do výše popsaného inkubačního roztoku přidáme suché cysty, a to v hustotě 2 g.l^{-1} . Při inkubaci malých objemů (méně než 20 l) může být tato hustota až 5 g.l^{-1} , neměla by však být vyšší. V případech, kdy nasazujeme již hydratované dekapsulované cysty lze standardně nasadit 5 g.l^{-1} . Při vyšších hustotách cyst dochází k pění inkubačního roztoku, čemuž je možné částečně zabránit úpravou intenzity aerace. Ulpění cysty na stěnách sedimentačního válce nebo láhve je vhodné alespoň zpočátku seškrabovat zpět do vody.

Poznámka: při častém líhnutí především větších množství nauplií se jeví jako praktické odměřování soli, sody a sušených cyst na odměrky, jejichž kapacitu jsme si exaktně zjistili.

- 7) Při vlastní inkubaci je nutné zajistit osvětlenost alespoň 2000 lux na hladině inkubačních láhví. Celková kompozice všech potřebných součástí je dobře patrná z obrázku 9.
- 8) V tomto prostředí inkubujeme cysty obvykle po dobu 24 hodin .
- 9) Po této době slijeme celý objem inkubační láhve do sedimentačního válce podle Imhoffa a necháme asi 5 minut odstát. Za předpokladu, že provádíme inkubaci přímo v Imhoffově sedimentačním válci, postačí vypnout aeraci. Díky kónickému dnu dojde k rychlé

sedimentaci nevylíhlých cyst, nad nimi můžeme pozorovat vrstvu vylíhlých nauplií a na hladině budou plavat prázdné skořápky vajíček. Nauplia se vyznačují takzvaným kladným fototropismem. Jejich separaci od nevylíhlých cyst a prázdných skořápek lze tedy urychlit použitím světelného zdroje umístěného v dolní části sedimentačního válce v kombinaci se zhasnutím horního světla určeného pro inicializaci líhnutí. Vše dobře vyplývá z obrázku 10.

Poznámka: namísto sedimentačního válce lze užít i jiné nádoby s kónickým dnem. Pomocí samospádu odsajeme hadičkou ode dna nejprve nevylíhlé cysty a poté vylíhlá nauplia.

- 10) Nevylíhlé cysty můžeme následně odpustit a nechat doinkubovat. To platí především v případech, kdy se jedná o méně kvalitní cysty nebo cysty potřebující delší dobu na své líhnutí. Vylíhlá nauplia scedíme do připraveného, v nádobce ponořeného, sítko. Tím zamezíme poškození vlastních nauplií. Poslední část tvořenou prázdnými obaly cyst a roztokem se zplodinami metabolismu (glycerol) vylijeme. Doba spojená se sedimentací cyst a jejich scezením by neměla trvat déle než 10 minut. Hrozí totiž poškození nauplií způsobené nedostatkem kyslíku.
- 11) Nauplia v sítku opatrně propláchneme čistou vodou, jejíž teplota by měla být totožná s teplotou vody v průběhu inkubace. To platí především v případě, že budeme chtít pokračovat s jejich odchovem. Tím jsou nauplia připravena k dalšímu využití.

Poznámka: na inkubaci vždy doporučujeme nasadit předem dekapsulované cysty. Tímto způsobem zajistíme kratší dobu inkubace a líhnutí bude více synchronizované. Nasazené cysty jsou zcela dezinfikované, dosáhneme lepší líhnivosti a energetický obsah nauplií bude vyšší. Navíc odpadá práce spojená s nutností oddělit vylíhlá nauplia od nevylíhlých cyst a prázdných obalů. Nestravitelné obaly totiž byly rozpuštěny a nevylíhlé cysty jsou jako krmivo zcela stravitelné. Po pouhém promytí jsou tedy taková nauplia připravena k následnému použití.

3.2.3. ZPŮSOBY VYUŽITÍ NAUPLIÍ

1) Přímé zkrmení čerstvě vylíhlých nauplií odchovávaným živočichům

V tomto případě je nezbytné začít se zkrmováním nauplií co nejdříve po jejich vylíhnutí. Nauplia totiž nepřijímají potravu, především ve vysokých teplotách vody rychle spotřebovávají své energetické rezervy a za 6–8 hodin se přeměňují do dalšího vývojového stádia – metanauplia. To je však v porovnání s čerstvě vylíhlými nauplii o 15–34 % lehčí, jeho energetický obsah je nižší o 22–39 % (obr. 5) a obsahuje méně volných aminokyselin. Metanaupliové stádium je navíc asi o 50 % větší a tudíž může být pro plůdek některých druhů ryb příliš velké. Navíc se jedná o rychleji se pohybující organismus. Celkově vzato se tedy jedná o hůře ulovitelnou potravu, která obsahuje méně živin.

Poznámka: na druhou stranu se však jeví, že metanauplia jsou lépe stravitelná, protože trávicí enzymy zažívacího traktu odchovávaných živočichů mohou snáze proniknout do jejich těla skrz jejich otevřená ústa a řitní otvor. Navíc jsou pro odchovávané živočichy bohatším zdrojem exogenních trávicích enzymů, které mohou významně pomáhat při zahájení a rozvoji činnosti jejich trávicího traktu a jejich větší velikost může být u některých stádií odchovávaných druhů výhodou.

V návaznosti na využití těchto vývojových stádií zábranožek jakožto živé potravy by mělo být zmíněno několik zásad, které jsou důležité při odkrmu našich živočichů – nejčastěji plůdku ryb. Existuje sice nepřeberné množství úzce druhově specializovaných

studií, základní užitý model uplatňovaný při odkrmu raného plůdku ryb je však možné považovat za totožný. Obecně je založen na předkládání dostatečného množství živé potravy, v našem případě žábronožek, s cílem podpořit její příjem a rozvoj trávicího systému u plůdku. Po několika dnech je přistoupeno k navyšování podílu suchých startérových krmných směsí v dietě a žábronožky se postupně stávají pouze jakýmsi přídatkem zajišťujícím především dobré přežití. Po čase je předkládání těchto vývojových stádií ukončeno a v případě potřeby je nahrazeno jiným druhem živé potravy. V této fázi odchovu jsou nauplia a metanauplia pro odrostlý plůdek již příliš malá, resp. značné potravní nároky a s nimi spojené finanční náklady by byly z ekonomického hlediska neúnosné (Jirásek a Mareš, 2001; Jirásek a kol., 2004).

2) Krátkodobé skladování nauplií v chladničce

Svlékní čerstvě vylíhlých nauplií do metanaupliového stádia a s ním spojené ztráty živin (obr. 5) lze zamezit jejich skladováním v chladném prostředí. Po separaci čerstvých nauplií od nevylihých cyst a vaječných obalů stačí nauplia po jejich propláchnutí (v tomto případě studenou vodou vychlazenou v lednici) umístit do solného roztoku o koncentraci soli alespoň 35 g.l^{-1} a teplotě $2\text{--}4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Pro tyto účely musíme použít nádobu s kónickým dnem – nejlépe PET s odříznutým dnem umístěnou ve stojanu (obr. 6). Následně vložíme cysty do chladničky, kde musí být udržovány v suspenzi aerací. Jinak by došlo k jejich sedimentaci a následnému úhynu. Použitá hustota může být až 8 milionů nauplií na 1 litr tohoto roztoku (to je množství nauplií, které se vylíhne ze 30–40 g kvalitních cyst). Nižší hustoty však budou znamenat lepší podmínky pro uchovávání nauplia. Po 24 hodinách skladování by úmrtnost a ztráty živin měly být menší než 5 %. Krátkodobým skladováním nauplií lze snížit počet nezbytných líhnutí při zachování jejich vysoké nutriční hodnoty a je tak možné nasazovat větší objemy cyst. Podchlazená nauplia jsou navíc při zkrmování méně mobilní a tudíž lépe dostupná pro ty druhy ryb a korýšů, kteří nejsou příliš efektivními lovci (Léger a kol., 1983; Merchie, 1996).

Poznámka: provozně je také možné skladovat suspenzi nauplií v polystyrénovém boxu s pytlíky tajícího ledu.

3) Dlouhodobé skladování v mrazáku

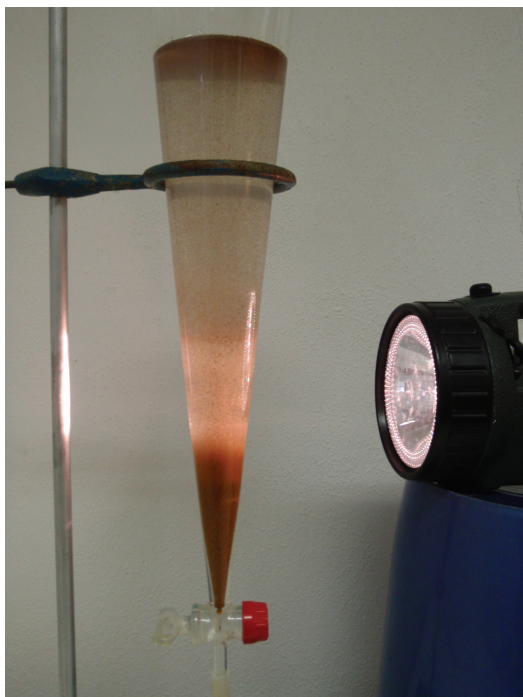
Vylíhlá nauplia lze samozřejmě také zmrazit. Jedná se však o jeden z nejhorších způsobů jejich použití. Působením mrazu totiž dojde k poškození buněk těla nauplií a po jejich rozmrznutí dochází k uvolňování jejich buněčných tekutin. Nejenže se odchovávaní živočichové nedostanou k cenným živinám, které tato potrava obsahovala, ale dochází také k nechtěnému zatížení odchovného prostředí organickými látkami. Navíc se jedná o nepohyblivou potravu, která nemusí být pro některé odchovávané druhy dostatečně atraktivní. Jde tedy o nouzové řešení používané nejčastěji při nevyrovnaném líhnutí nauplií.

4) Nasazení k odkrmu

O této možnosti využití bude podrobněji pojednáno v následující kapitole.



Obr. 9: Celková kompozice všech součástí potřebných pro inkubaci cyst žábřonožek. Základ tvoří akvárium s krytem, který zajišťuje stabilitu vlastních láhví. Akvárium je dále osazeno čerpadlem, topítkem s regulací výkonu a kontrolním teploměrem. Vše je doplněno nezbytným osvětlením a vzduchovacím motorkem s rozvodem.



Obr. 10: Oddělování vylíhlých nauplií pomocí sedimentace a světla. Vylíhlé larvy se shlukují v dolní třetině sedimentačního válce. Prázdné skořápky plavou na hladině a nevylíhlé cysty sedimentují zcela na dně válce. Odpouštěním (kohoutem) nebo odsátím (hadičkou) lze jednotlivé vrstvy oddělit.

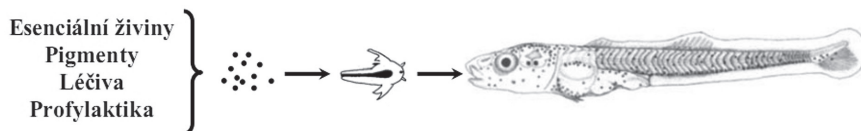
3.3. ODKRM ŽÁBRONOŽEK

3.3.1. ZÁKLADNÍ CHOVATELSKÁ VÝCHODISKA ODKRMU ŽÁBRONOŽEK

Potravu přijímající metanauplia lze za předpokladu, že nebyla zkrmena, dále odchovávat (viz kapitola 3.2.3. – poznámka k přímému zkrmování čerstvě vylíhlých nauplií). Tito odchovaní jedinci mohou být svou velikostí (obr. 4) vhodnou potravou pro odrůstající plůdek ryb a larvy koryšů. Žábronožky jsou navíc relativně rychle rostoucí živočichové, kteří dosahují své pohlavní dospělosti již za dva až tři týdny a mají vysokou plodnost (Browne a Wanigasekera, 2000; Medina a kol., 2007). Také se jedná o potravu, která je velmi dobře stravitelná a v porovnání s vylíhlými nauplii značně bohatá na obsah bílkovin. Rovněž lze upravovat požadovaný obsah tuků a s ním související kompozici mastných kyselin, a to pouhou volbou předkládaného krmiva (Dhont a Lavens, 1996).

V kontrolovaných podmínkách je odchov jednotlivých vývojových stádií až do dospělosti založen na jednoduchém postupu, kdy žábronožky odkrmujeme na kulturách různých řas (Evjemo a Olsen, 1999; Landau a kol., 1986), případně produktech, jako je mouka, šrot či otruby různých zemědělských plodin (Brisset a kol., 1982; Dhert a kol., 1992) nebo komerčně dostupných suchých směsí (Naegel, 1999). V experimentálních podmínkách se často využívá kombinace řasových kultur a suchých diet založených na bázi kvasnic (Baxeveinis a kol., 2004; El-Bermawi a kol., 2004).

Ačkoliv jsou metody odchovu žábronožek až do dospělosti relativně dobře propracované, nelze než konstatovat, že v našich podmínkách se nikdy nedočkaly významného uplatnění. Hlavním problémem je totiž značná pracnost a časová náročnost spojená s tímto odchovem. Navíc se nenacházíme ve vhodných klimatických podmínkách a případná kultivace žábronožek bude spjata se značnými spotřebami energií nehledě na prostorové nároky vlastní odchovny. Komplikace mohou navíc nastat ve chvíli, kdy kultivujeme vlastní řasové kultury, neboť i tyto technologie jsou spojeny s řadou specifíků a úskalí. Nejinak je tomu i v případě chovu vlastních žábronožek, čímž se pravděpodobnost možných problémů s odchovem našich cílových organismů – ryb a koryšů neúměrně zvyšuje. Ve výsledku by se tak jednalo o chov, jehož produkce nepokryje vložené vstupy a případná rizika. To je hlavním důvodem, proč chovatelé v našich podmínkách v případě potřeby využívají především dekapsulované cysty, čerstvě vylíhlá nauplia popř. metanauplia žábronožek. V případě skutečného odchovu žábronožek se pak tyto techniky zpravidla omezují pouze na krátkodobý odkrm metanauplií. Žábronožky nejsou pro řadu odchovávaných živočichů zcela plnohodnotným krmivem. Tento stav však může být zlepšen právě takovýmto odchovem, při kterém je předkládáno krmivo s vhodným živinovým profilem (tj. se zvýšeným množstvím požadovaných živin). Tímto je možné případné živinové nedostatky žábronožek pro odchovávané živočichy omezit. Při těchto, zpravidla 24hodinových, odkrmech plně využíváme skutečnosti, že žábronožky jsou neselektivními filtrátory a přijímají prakticky jakoukoliv předloženou potravu s vhodnou velikostí částic. Tento fakt vedl k rozvoji metod tzv. bioenkapsulace (viz obr. 11 a 12), kdy můžeme metanauplia obohacovat nejen o požadované živiny, ale i pigmenty, léčiva a profylaktika.



Obr. 11: Schématické znázornění principu bioenkapsulace, kdy je předkládáním vhodného krmiva (substance) vylepšen živinový profil metanauplií, popř. je toto vývojové stádium žábronožek využito jako vektor k přenosu specifických látek, jako jsou pigmenty, profylaktika či léčiva do organismu odchovávaného druhu (Kováč (2002) a Léger a kol. (1987); upraveno).

Díky této metodě jsou metanauplia zábronožek obohacována o různé živiny, nejčastěji o polynenasycené mastné kyseliny, zvláště pak se jedná o esenciální kyselinu eikosapentaenovou (EPA; 20:5) a dokosaheptaenovou (DHA; 22:6) (Han a kol., 2000; Rainuzzo a kol., 1997). Žábronožky byly shledány jako méně efektivní organismy při přijímání těchto mastných kyselin (v porovnání s vířníky rodu *Brachionus*, kteří jsou pro tyto účely také široce využíváni v akvakultuře) (Léger a kol., 1986). Navíc je známo, že metanauplia přeměňují část přijaté DHA na EPA, čímž jsou z pohledu výživového méně nutričně hodnotná (Han a kol., 2001; Navarro a kol., 1999). Přesto však bylo prokázáno, že takto obohacené žábronožky zlepšují přežití a růst celé řady odchovávaných druhů ryb (Dhert a kol., 1990; Hamre a Harboe, 2008) a korýšů (Liddy a kol., 2005; Martins a kol., 2006). S obdobným úspěchem však mohou být využity u druhů méně běžných, jako jsou například mořští koníci (Woods, 2003) či larvy chobotnic (Seixas a kol., 2008).

Pro bioenkapsulaci EPA a DHA používáme v akvakulturních podmínkách různé rybí či rostlinné oleje s vhodnou kompozicí těchto esenciálních látek (Das a kol., 2007; Immanuel a kol., 2007). Jejich obsah v metanaupliích lze také zvýšit zkrmováním vybraných druhů řas náležících do rodů *Cryptocodinium* a *Schizochytrium*, které jsou z tohoto pohledu též velice hodnotným zdrojem (Harel a kol., 2002; Yamasaki a kol., 2007). Standardem v této oblasti je však užívání různých produktů výrobní řady Selco (INVE, Belgie), komerčně jsou ale dostupné i další, pro tyto účely určené, produkty. S výjimkou využití zmíněných řas se v podstatě vždy jedná o různé olejovité emulze s požadovaným profilem mastných kyselin, přídavkem vitamínů či jejich lipofilních derivátů a antioxidantů. Přidaný emulgátor zajišťuje, že jsou jednotlivé tukové kapénky velikostně přijatelné pro odchovávané žábronožky.

Vzhledem k tomu, že obohacování metanauplií žábronožek o EPA a DHA je jednoznačně nejrozšířenějším způsobem využití bioenkapsulace, je rámcový protokol této metody (především s ohledem na využití výrobků řady Selco) blíže rozpracován v kapitole 3.3.2.



Obr. 12: Metanauplium žábronožky v počáteční fázi příjmu potravy. Buňky řasy *Chlorella* jsou jasně patrné především v kaudální části zažívacího traktu (foto: M. Bláha).

Z pohledu esenciálních živin nezle opomenout obohacování metanauplií o vitamíny. Nejčastěji zmiňovaným je v tomto ohledu vitamín C (kyselina askorbová), jehož obsah v žábronožkách může být navýšen předkládáním některých řas. Koncentrace této látky se však velmi liší mezi jednotlivými druhy (Merchie a kol., 1995). To vedlo k zavedení

standardních metod užívajících jako zdroj vitamínu C jeho v tucích rozpustný derivát – palmitát kyseliny askorbové. Ten lze přidávat k bioenkapsulačnímu přípravku, v množství 10–20 % této složky. Jako přípravek – nosič tohoto derivátu poslouží již výše zmíněné produkty řady Selco, komerčně dostupné produkty či jiné olejovité emulze s možným přidavkem lipozomů (Monroig a kol., 2007). Stejně tak je možné přímo použít některé výrobky řady Selco, které jsou již obohaceny tímto derivátem, ale i dalšími prospěšnými látkami. Pokud živočichy přijatá dieta obsahuje alespoň 20–130 mg vitamínu C v 1 kg suchého krmiva, měly by být vykryty základní živinové požadavky odchovávaných ryb či korýšů. Tímto by měl být zajištěn jejich dobrý růst i přežití. Za předpokladu, že toto množství bude ještě větší (v řádu stovek mg až 1500 mg.kg⁻¹), bude patrná větší rezistence vůči stresu a onemocněním (Gapasin a kol., 1998; Merchie a kol., 1997).

Obdobným postupem lze metanauplia obohacovat o vitamín E. V tomto případě přidáme k nosiči (Selco nebo jiné komerčně dostupné produkty, různé oleje) známé množství tohoto vitamínu, nejčastěji α – tokoferolu v množství 1 % bioenkapsulačního přípravku (Jalali a kol., 2008). Stejně tak můžeme naupliím předkládat vybrané druhy řas (Marques a kol., 2006). Tím jsou zábronožky navíc obohaceny nejen o vitamíny C, E a polynenasycené mastné kyseliny, ale i o další látky, jako jsou pigmenty či polysacharidy (Vismara a kol., 2003), což by mělo vést k lepšímu růstu, přežití a rezistenci odchovávaných živočichů.

Metanauplia mohou být také užita jako prostředek k podávání různých léčiv (Gapasin a kol., 1996). Jedná se zpravidla o různé sulfonamidy a antibiotika (Touraki a kol., 1999). Mezi často užívaná antibiotika můžeme přiřadit oxytetracyklin a erytromycin (především ve formě stearátu nebo estolátu) (Cook a Rust, 2002; Gomez-Gil a kol., 2001). Tato léčiva se zpravidla přidávají do bioenkapsulačního přípravku (produkty řady Selco nebo jiné dostupné olejovité emulze) v množství 20–40 % této složky. Doba bioenkapsulace trvá v závislosti na léčivu 4–24 hodin. Poté je možné metanauplia propláchnout vodou a okamžitě zkrmovat, případně skladovat v chladu (do 5 °C) po dobu až 8 hodin. Při tomto skladování se řídíme obecnými pravidly, která jsou platná pro skladování nauplií v chladničce. K technikám obohacování metanauplií zábronožek o specifická léčiva je však nutno podotknout, že jejich standardizace je poněkud složitá a podání léčebné dávky nemusí být vždy zajištěno. Nezáleží totiž pouze na množství přijaté potravy reprezentované obohacenými metanauplii. Konečná koncentrace léčebné látky je totiž také ovlivněna kvalitou samotných zábronožek, konkrétní chemickou formou aplikovaného léčiva a parametry užití emulze. Měli bychom ale také mít na mysli, že časté používání antibiotik vede ke vzniku rezistentních kmenů bakterií.

Právě ve snaze omezit široké užívání léčiv, především antibiotik, začaly být vyvíjeny metody zvyšující imunitu a obranyschopnost chovaných živočichů (Dhert a kol., 1997). Jedná se zpravidla o uplatňování různých profylaktických technik využívajících **prebiotika** – nestravitelné nebo málo stravitelné složky krmiva, které podporují růst nebo aktivitu střevní mikroflóry a zlepšují tak zdravotní stav živočicha a **probiotika** (živé mikroorganismy, ale i mrtvé části mikrobiálních buněk přidávané do krmiva, které příznivě ovlivňují zdravotní stav živočicha zlepšením rovnováhy jeho střevní mikroflóry; v akvakultuře je navíc zmiňován i jejich vliv na stav kůže a epitelu žaber) (Daniels a kol., 2007; Gatesoupe, 2005). Metanauplia zábronožek však byla prozatím používána jen při bioenkapsulaci probiotik, a to především pro odkrm larev ryb a korýšů. Při těchto metodách jsou metanauplia obohacována v suspenzi vybraných druhů bakterií zpravidla po dobu několika desítek minut (Makridis a kol., 2000, 2001). Množství zábronožkami požitých mikroorganismů je však značně ovlivněno použitým bakteriálním druhem, dobou expozice, hustotou suspenze a skutečností, zda se jedná o bakterie živé či mrtvé (Gomez-Gil a kol., 1998). Ačkoliv jsou ve vztahu k probiotikům zmiňovány různé způsoby jejich pozitivního působení, je pravdou, že míra poznání těchto mechanismů je prozatím stále na velmi nízké úrovni, založená především na studiích *in vitro*. Skutečná situace v živém organismu však může být v mnohém velmi odlišná. To je hlavním důvodem nezbytnosti dalšího výzkumu v této oblasti (Tinh a kol., 2008). Obohacování metanauplií o probiotika můžeme z pohledu našich chovatelů označit

v současné době za okrajové a ani v blízké budoucnosti nemůžeme očekávat významné rozšíření těchto relativně pokročilých technologií v praxi.

3.3.2. METODICKÝ POSTUP PŘI ODKRMU METANAUPLIÍ

Pro vlastní odkrm (obohacení) metanauplií budeme potřebovat akvárium s inkubačními láhvemi, kontrolním teploměrem, kompletním provzdušňovacím zařízením, akvaristickým topítkem a čerpadlem stejně jako při líhnutí nauplií (viz obr. 9). Pro scezení obohacených metanauplií užijeme sítko (viz líhnutí nauplií).

Pracovní postup při líhnutí

- 1) Inkubační láhve naplníme vodou asi do 4/5 jejich objemu a umístíme je do vodní lázně v akváriu, která je udržována v rozmezí 25–28 °C.
- 2) Do vody přidáme kuchyňskou sůl, a to v množství 30–35 g.l⁻¹.
- 3) Vodu v inkubačních láhvích silně provzdušňujeme (ode dna). Obsah ve vodě rozpuštěného kyslíku nesmí nikdy v průběhu bioenkapsulace klesnout pod koncentraci 4 mg.l⁻¹.
- 4) V průběhu obohacování metanauplií je potřeba udržovat pH v rozmezí 8,0–8,5. Této mírně zásadité reakce dosáhneme přidáním přiměřeného množství jedlé sody, obvykle postačuje několik desetin gramu na 1 litr roztoku.
- 5) Do jednoho litru tohoto roztoku můžeme přidat 100 000 čerstvě vylíhlých nauplií, což je množství, které se vylíhne ze 4–5 g kvalitních suchých cyst.

Poznámka: musí se jednat pouze o nauplia bez nevylíhlých cyst a prázdných obalů, která byla šetrně propláchnuta vodou. Teplota této vody by se neměla příliš lišit od 25–28 °C.

- 6) Za 6–8 hodin od svého vylíhnutí se začnou nauplia svlékat do dalšího vývojového stádia – potravu přijímajícího metanauplia. To je ta pravá doba pro přidání bioenkapsulačního přípravku, a to v množství 0,3 g.l⁻¹ (přibližně 5 kapek). Pro tyto účely používáme různé komerčně dostupné produkty, nejčastěji z výrokové řady Selco či jiné olejovité emulze (viz kapitola 3.3.1.).

Poznámka: načasování aplikace bioenkapsulačního přípravku je vhodné zvolit tak, aby měla metanauplia dostatek této potraviny již od prvních okamžiků příjmu potraviny – neměla by tedy hladovět. Je ale zbytečné předkládat bioenkapsulační přípravek potravu nepřijímajícím naupliím.

- 7) Takto odchováváme metanauplia za stálého osvětlení a aerace po dobu 24 hodin.
- 8) V průběhu této doby provedeme ještě jednu aplikaci stejného množství užitého bioenkapsulačního přípravku. Časově se přibližně jedná o dobu 2–3 hodin před koncem bioenkapsulačního procesu.

Poznámka: Před podáním obou krmných dávek je vhodné bioenkapsulační přípravek intenzivně promísit s určitým množstvím náležitě osolené vody v kuchyňském mixeru po dobu 1–2 minut. Tím pomůžeme vytvoření velkého množství drobných kapének, které budou následně dobře požírány metanauplií.

- 9) Po této době postačí z obohacených metanauplií propláchnout bioenkapsulační přípravek a následně jsou již žábronožky připraveny k dalšímu použití.

Poznámka: Bioenkapsulační přípravky je zpravidla potřeba skladovat na chladném (4–15 °C), tmavém a suchém místě. Měly by být spotřebovány do 1 roku od data výroby a neměly by zmraznout. Již otevřená balení je třeba skladovat v chladničce a spotřebovat do 1 měsíce.

3.3.3. ZPŮSOBY VYUŽITÍ ODKRMENÝCH METANAUPLIÍ

1) Přímé zkrmení obohacených metanauplií odchovávaným živočichům

Nejlepším využitím těchto obohacených žábronožek je jejich přímé zkrmení, a to okamžitě po ukončení bioenkapsulačního procesu.

2) Krátkodobé skladování obohacených metanauplií v chladničce

Méně vhodnou, avšak možnou metodou, je krátkodobé přechovávání v chladničce. Hlavním cílem je přitom omezit skladováním způsobené ztráty živin u žábronožek samotných, ale především minimalizovat vyloučení bioenkapsulovaných látek z jejich trávicího traktu. Je nutné podotknout, že rychlost trávení tohoto vývojového stádia je velmi rychlá – obvykle pouze několik hodin. V každém případě by měly být žábronožky spotřebovány do 24 hodin. Z pohledu metodického postupujeme při tomto skladování obdobným způsobem jako u nauplií (kapitola 3.2.3.).

4. PODĚKOVÁNÍ

Metodika je výsledkem řešení projektu MSM 6007665809, projektu GAČR GA521/09/0656 a projektu Mze ČR NAZV č. QH71305.

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abatzopoulos, T., Zheng, B., Sorgeloos, P., 1998. *Artemia tibetiana*: preliminary characterization of a new *Artemia* species found in Tibet (People's Republic of China). International Study on *Artemia* LIX; International Journal of Salt Lake Research 7, 41–44.
- Adámková, I., 1999. Postup dekapsulace trvalých vajíček artémie a jejich použití v akvakultuře. Metodika VÚRH JU Vodňany 58, 10 s.
- Asem, A., Rastegar-Pouyani, N., 2007. Sexual Dimorphism in *Artemia urmiana* Günther, 1899 (Anostraca: Artemiidae) from the Urmia Lake, West Azerbaijan, Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances 6, 1409–1415.
- Bardócz, T., Kovács, É., Radics, F., Sándor, Zs., 1999. Experiments for the improved use of decapsulated *Artemia* cysts in intensive culture of African catfish larvae. Journal of Fish Biology 55(A), 227–232.
- Baxevanis, A.D., El-Bermawi, N., Abatzopoulos, T.J., Sorgeloos, P., 2004. Salinity effects on maturation, reproductive and life span characteristics of four Egyptian *Artemia* populations (International Study on *Artemia*. LXVIII). Hydrobiologia 513, 87–100.
- Bowen, S.T., Hanson, J., 1962. A gynandromorph of the brine shrimp, *Artemia salina*. Genetics 47, 277–280.
- Brisset, P.J., Versichele, D., Bossuyt, E., De Ruyck, L., Sorgeloos, P., 1982. High density flow - through culturing of brine shrimp *Artemia* on inert feeds. Preliminary results with a modified culture system. Aquaculture Engineering 1, 115–119.
- Browne, R.A., Wanigasekera, G., 2000. Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of *Artemia*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 244, 29–44.

- Bruggeman, E., Baeza-Mesa, M., Bossuyt, E., Sorgeloos, P., 1979. Improvements in the decapsulation of *Artemia* cysts, p. 309-315. *In: Cultivation of fish fry and its live food*. Styczynska-Jurewicz, E., Backiel, T., Jaspers, E., Persoone, G., (Eds.), European Mariculture Society Special Publication (4), Bredene, Belgie, 534 s.
- Bruggeman, E., Sorgeloos, P., Vanhaecke, P., 1980. Improvements in the decapsulation technique of *Artemia* cysts, *In: The Brine Shrimp Artemia*. Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds.), Proceedings of the International Symposium on the brine shrimp *Artemia salina*, Corpus Christi, Texas, USA, August 20–23, 1979: 3. Ecology, culturing, use in aquaculture 261–269.
- Cano, I., Lopez-Jimena, B., Garcia-Rosado, E., Ortiz-Delgado, J.B., Alonso, M.C., Borrego, J.J., Sarasquete, C., Castro, D., 2009. Detection and persistence of Lymphocystis disease virus (LCDV) in *Artemia* sp. *Aquaculture* 291, 230–236.
- Celada, J.D., Aguilera, A., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., Melendre, P.M., 2008. Rearing tench (*Tinca tinca* L.) larvae on live feed (*Artemia*) and on two transition schedules from live to dry diets. *Journal of Applied Ichthyology* 24, 595–600.
- Claus, C., Benijts, F., Vandeputte, G., Gardner, W., 1979. The biochemical composition of the larvae of two strains of *Artemia salina* (L.) reared on two different algal foods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 36, 171–183.
- Cook, M.A., Rust, M.B., 2002. Bioencapsulation of five forms of erythromycin by adult *Artemia salina* (L.). *Journal of Fish Diseases* 25, 165–170.
- Criel, G.R.J., Macrae, T.H., 2002. Reproductive biology of *Artemia*. *In: Artemia: Basic and Applied Biology*. Abatzopoulos, T.J., Beardmore, J.A., Clegg, J.S., Sorgeloos, P. (Eds.), Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 39–128.
- Daniels, C., Boothroyd, D., Davies, S., Pryor, R., Wells, C., 2007. Developing and understanding the use of pre-biotics in homarid lobster culture. *Aquaculture Health International* 8, 32–35.
- Das, S.K., Tiwari, V.K., Venkateshwarlu, G., Reddy, A.K., Parhi, J., Sharma, P., Chettri, J.K., 2007. Growth, survival and fatty acid composition of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) post larvae fed HUFA-enriched *Moina micrura*. *Aquaculture* 269, 464–475.
- Davis, J.A., Wille, M., Hecht, T., Sorgeloos, P., 2005. Optimal first feeding organism for South African mud crab *Scylla serrata* (Forskål) larvae. *Aquaculture International* 13, 187–201.
- Delbos, B.C., Schwarz, M.H., 2009. *Artemia* culture for intensive finfish and crustacean larviculture. *Virginia Cooperative Extension* 600–106, 6 s.
- Dhert, P., Lavens, P., Duray, M., Sorgeloos, P., 1990. Improved larval survival at metamorphosis of Asian sea bass (*Ides calcarifer*) using ω 3-HUFA-enriched live food. *Aquaculture* 90, 63–74.
- Dhert, P., Bombeo, R.B., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1992. A simple semi flow-through culture technique for the controlled super-intensive production of *Artemia* juveniles and adults. *Aquacultural Engineering* 11, 107–119.
- Dhert, P., Lim, L.C., Candreva, P., Van Duffel, H., Sorgeloos, P., 1997. Possible applications of modern fish larviculture technology to ornamental fish production. *Aquarium Sciences and Conservation* 1, 119–128.
- Dhont, J., Sorgeloos, P., 1996. Tank production and use on ongrown *Artemia*, *In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), 361 Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome, 164–195.
- Dhont, J., Sorgeloos, P., 2002. Applications of *Artemia*. *In: Basic and Applied Biology*. Abatzopoulos, T.J., Beardmore, J.A., Clegg, J.S., Sorgeloos, P. (Eds.), *Artemia: Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers* 251–277.
- Eimanifar, A., Rezvani, S., Carapetian, J., 2006. Genetic differentiation of *Artemia urmiana* from various ecological populations of Urmia Lake assessed by PCR amplified RFLP analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 333, 275–285.

- El-Bermawi, N., Baxevanis, A.D., Abatzopoulos, T.J., Van Stappen, G., Sorgeloos, P., 2004. Salinity effects on survival, growth and morphometry of four Egyptian *Artemia* populations (International Study on *Artemia*. LXVII). *Hydrobiologia* 523, 175–188.
- Evjemo, J.O., Olsen, Y., 1999. Effect of food concentration on the growth and production rate of *Artemia franciscana* feeding on algae (*T. iso*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 242, 273–296.
- Gapasin, R.S.J., Nelis, H.J., Chair, M., Sorgeloos, P., 1996. Drug assimilation in the tissue of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fry delivered orally through bioencapsulation. *Journal of Applied Ichthyology* 12, 39–42.
- Gapasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P., Neils, H., 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C, effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture* 162, 269–286.
- García-Ortega, A., Verreth, J.A.J., Coutteau, P., Segner, H., Huisman, E.A., Sorgeloos, P., 1998. Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages. *Aquaculture* 161, 501–514.
- García-Ortega, A., Verreth, J., Van Hoornick, A., Segner, H., 2000. Heat treatment affects protein quality and protease activity in decapsulated cysts of *Artemia* when used as starter food for larvae of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquaculture Nutrition* 6, 25–31.
- Gatesoupe, F.J., 2005. Probiotics and prebiotics for fish culture, at the parting of the ways. *Aqua Feeds: Formulation and Beyond* 2, 3–5.
- Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Abreu-Grobois, F.A., Roque, A., 1998. Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Applied and Environmental Microbiology* 64, 2318–2322.
- Gomez-Gil, B., Cabanillas-Ramos, J., Paez-Brambila, S., Roque, A., 2001. Standardization of the bioencapsulation of enrofloxacin and oxytetracycline in *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. *Aquaculture* 196, 1–12.
- González, R., Celada, J.D., Carral, J.M., González, A., Sáez-Royuela, M., García, V., 2009. Decapsulated *Artemia* cysts as dietary supplement for juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus*, Astacidae) at different food supply frequencies from the onset of exogenous feeding under controlled conditions. *Aquaculture* 295, 200–204.
- Gostling, N.J., Dong, X., Donoghue, P.C.J., 2009. Ontogeny and taphonomy: an experimental taphonomy study of the development of the brine shrimp *Artemia salina*. *Palaeontology* 52, 169–186.
- Guerao G., Rotllant, G., 2009. Survival and growth of post-settlement juveniles of the spider crab *Maja brachydactyla* (Brachyura: Majoidea) reared under individual culture system. *Aquaculture* 289, 181–184.
- Hajirostamloo, M., 2008. Differences of shell structure in cysts of *Artemia* from various depth of Urmia Lake (Iran). *Research Journal of Biological Sciences* 3, 648–653.
- Hamáčková, J., Kozák, P., Kouba, A., Lepič, P., 2008. Sledování růstu larev podoustve říční (*Vimba vimba*) při krmení naupliemi a dekapulovanými vajíčky *Artemia salina*, *Bulletin VÚRH Vodňany* 3, 65–69.
- Hamre, K., Harboe, T., 2008. *Artemia* enriched with high n-3 HUFA may give a large improvement in performance of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 277, 239–243.
- Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P., 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 183, 335–347.
- Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P., 2001. Fatty acid changes in enriched and subsequently starved *Artemia franciscana* nauplii enriched with different essential fatty acids. *Aquaculture* 199, 93–105.

- Harel, M., Koven, W., Lein, I., Bar, Y., Behrens, P., Stubblefield, J., Zohar, Y., Place, A.R., 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. *Aquaculture* 213, 347–362.
- Harzevili, A.S., De Charleroy, D., Auwerx, J., Vught, I., Van Slycken, J., 2003. Larval rearing of chub, *Leuciscus cephalus* (L.), using decapsulated *Artemia* cysts as direct food. *Journal of Applied Ichthyology* 19, 123–125.
- Harzevili, A.S., Vught, I., Auwerx, J., De Charleroy, D., 2004. Larval rearing of ide (*Leuciscus idus* (L.)) using decapsulated *Artemia*. *Archives of Polish Fisheries* 12, 191–195.
- Hung, L.T., Tuan, N.A., Cacot, P., Lazard, J., 2002. Larval rearing of the Asian catfish, *Pangasius bocourti* (Siluroidei, Pangasiidae): alternative feeds and weaning time. *Aquaculture* 212, 115–127.
- Immanuel, I., Citarasu, T., Sivaram, V., Shankar, S.V., Palavesam, A., 2007. Bioencapsulation strategy and highly unsaturated fatty acids (HUFA) enrichment in *Artemia franciscana* nauplii by using marine trash fish *Odonus niger* liver oil. *African Journal of Biotechnology* 17, 2043 – 2053.
- Jalali, M.A., Hosseini, S.A., Imanpour, M.R., 2008. Effect of vitamin E and highly unsaturated fatty acid-enriched *Artemia urmiana* on growth performance, survival and stress resistance of Beluga (*Huso huso*) larvae. *Aquaculture Research* 39, 1286–1291.
- Jirásek, J., Mareš, J., 2001. Výživa a krmení raných vývojových stadií kaprovitých ryb. I. Biologické a fyziologické aspekty výživy larválních stadií. *Bulletin VÚRH Vodňany* 1, 23–38.
- Jirásek, J., Mareš, J., Kopp, R., 2004. Předpoklady pro úspěšný odchov raných stadií kapra v kontrolovaných podmínkách. In: VII. česká ichtyologická konference. Vykusová, B. (Ed.), Vodňany 6.-7.5.2004, VÚRH JU Vodňany, 229–233.
- Kaiser, H., Endemann, F., Paulet, T.G., 2003. A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Aquaculture Research* 34, 943–950.
- Kováč, V., 2002. Synchrony and heterochrony in ontogeny (of fish). *Journal of Theoretical Biology* 217, 499–507.
- Kuban, F.D., Wilkenfeld, J.S., Lawrence, A.L., 1983. Survival and growth of *Penaeus setiferus* L. and *Penaeus aztecus* Ives larvae fed *Artemia* beginning at the protozoa-two substage versus the mysis-one substage. *Journal of the World Mariculture Society* 14, 38–48.
- Landau, M., Bolis, C., Miyamoto, G., 1986. A method for the production of the brine shrimp, *Artemia salina* Leach, in a Manure-based system. *Agricultural Wastes* 15, 79–83.
- Lavens P., Tackert, W., Sorgeloos, P., 1986. International study on *Artemia*. XLI. Influence of culture conditions and specific diapause deactivation methods on the hatchability of *Artemia* cysts produced in a standard culture system. *Marine Ecology Progress Series* 31, 197–203.
- Lavens, P., Sorgeloos, P., 1987. The cryptobiotic state of *Artemia* cysts, its diapause deactivation and hatching: a review. In: *Artemia* research and its applications: 3. Ecology, culturing, use in aquaculture. Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W. and Jaspers, E. (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium. Proceedings of the Second International Symposium on the brine shrimp *Artemia* 27–63.
- Lavens, P., Sorgeloos, P., 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture* 181, 397–403.
- Léger, P., Vanhaecke, P., Sorgeloos, P., 1983. International study on *Artemia*: XXIV. Cold storage of live *Artemia* nauplii from various geographical sources: potentials and limits in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 2, 69–78.

- Léger, P., Sorgeloos, P., 1984. International Study on Artemia. XXIX. Nutritional evaluation of *Artemia* nauplii from different geographical origin for the marine crustacean *Mysidopsis bahia*. Marine Ecology Progress Series 15, 307–309.
- Léger, P., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. Oceanography and Marine Biology Annual Review 24, 521–623.
- Léger, P., Bengtson, D.A., Sorgeloos, P., Simpson, K.L., Beck, A.D., 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review, 357–372. In: *Artemia* research and its applications. Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Decler, W., Jaspers, (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium, 556 s.
- Liddy, G.C., Kolkowski, S., Nelson, M.M., Nichols, P.D., Phillips, B.F., Maguire, G.B., 2005. The effect of PUFA enriched *Artemia* on growth, survival and lipid composition of western rock lobster, *Panulirus cygnus*, phyllosoma. Aquaculture Nutrition 11, 375–384.
- Lim, L.C., Cho, Y.L., Dhert, P., Wong, C.C., Nelis, H., Sorgeloos, P., 2002. Use of decapsulated *Artemia* cysts in ornamental fish culture. Aquaculture Research 33, 575–589.
- Lim, L.C., Dhert, P., Sorgeloos, P., 2003. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. Aquaculture 227, 319–331.
- Makridis, P., Fjellheim, J.A., Skjermo, J., Vadstein, O., 2000. Control of the bacterial flora of *Brachionus plicatilis* and *Artemia franciscana* by incubation in bacterial suspensions. Aquaculture 185, 207–218.
- Makridis, P., Bergh, Ø., Skjermo, J., Vadstein, O., 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in *Artemia* metanauplii to a rearing system for halibut larvae. Aquaculture International 9, 225–235.
- Marques, A., Toi, H.T., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2006. Use of microalgae and bacteria to enhance protection of gnotobiotic *Artemia* against different pathogens. Aquaculture 258, 116–126.
- Martins, T.G., Cavalli, R.O., Martino, R.C., Rezende, C.E.M., Wasielesky, W., 2006. Larviculture output and stress tolerance of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae fed *Artemia* containing different fatty acids. Aquaculture 252, 525–533.
- Medina, G.R., Goenaga, J., Hontoria, F., Cohen, G., Amat, F., 2007. Effects of temperature and salinity on prereproductive life span and reproductive traits of two species of *Artemia* (Branchiopoda, Anostraca) from Argentina: *Artemia franciscana* and *A. persimilis*. Hydrobiologia 579, 41–53.
- Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P., Dehasque, M., Nelis, H., De Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. Aquaculture 134, 325–337.
- Merchie, G., 1996. Use of nauplii and metanauplii, In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), 361 Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome, 137–163.
- Merchie, G., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture 155, 165–181.
- Monroig, Ó., Navarro, J.C., Amat, F., Hontoria, F., 2007. Enrichment of *Artemia* nauplii in vitamin A, vitamin C and methionine using liposomes. Aquaculture 269, 504–513.
- Moraiti-Ioannidou, M., Castritsi-Catharios, J., Miliou, H., Sorgeloos, P., 2009. Biochemical composition and digestive enzyme activity during naupliar development of *Artemia* spp from three solar saltworks in Greece. Aquaculture 286, 259–265.
- Morris, J. E., Afzelius, B.A., 1967. The structure of the shell and outer membranes in encysted *Artemia* salina embryos during cryptobiosis and development. Journal of Ultrastructure Research 20, 244–259.

- Naegel, L.C.A., 1999. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet compared with the microalgae *Chaetoceros*. *Aquacultural Engineering* 21, 49–59.
- Navarro, J.C., Henderson, R.J., McEvoy, L.A., Bell, M.V., Amat, F., 1999. Lipid conversions during enrichment of *Artemia*. *Aquaculture* 174, 155–165.
- Núñez, J., Dugué, R., Arana, N.C., Duponchelle, F., Renno, J.F., Raynaud, T., Hubert, N., Legendre, M., 2008. Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. *Aquaculture Research* 39, 764–776.
- Palmeigiano, G.B., Trotta, P., 1983. *Artemia salina* as pabulum for growing penaeids under laboratory conditions. *Aquacultural Engineering* 2, 173–179.
- Pector, R., Tackaert, W., Abelin, P., Ollevier, F., Sorgeloos, P., 1994. A comparative study on the use of different preparations of decapsulated *Artemia* cysts as food for rearing African catfish (*Clarias gariepinus*) larvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 25, 366–370.
- Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103–115.
- Ribeiro, F.A.L.T., Jones, D.A., 1998. The potential of dried, low-hatch, decapsulated *Artemia* cysts for feeding prawn post-larvae. *Aquaculture International* 6, 421–440.
- Rodríguez-Almaraz, G., Zavala, C., Mendoza, R., Maeda-Martínez, A.M., 2006. Ecological and biological notes on the brine shrimp *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) from Carmen Island, Baja California Sur, México. *Hydrobiologia* 560, 417–423.
- Royan, J.P., 1980. Decapsulated brine shrimp cysts—an ideal feed for shrimps in aquaculture. *Indian Journal of Marine Sciences* 9, 125–127.
- Seale, A., 1933. The brine shrimp (*Artemia*) as a satisfactory live food for fishes. *Transactions of the American Fisheries Society* 63, 129–130.
- Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L.M.P., Otero, A., 2008. Producing juvenile *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture* 283, 83–91.
- Slifer, E. H., 1945. Removing the shell from living grasshopper eggs. *Science* 102, 282.
- Sorgeloos, P., Baeza-Mesa, M., Claus, C., Vandeputte, G., Benijts, F., Bossuyt, E., Bruggeman, E., Persoone, G., Versichele, D. (1977a). *Artemia salina* as live food in aquaculture, In: Fundamental and applied research on the brine shrimp *Artemia salina* (L.) in Belgium. Jaspers, E. (Ed.). Special Publication European Mariculture Society 2, 37–46.
- Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Laviña, E., Baeza-Mesa, M., Persoone, G., 1977b. Decapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture* 12, 311–315.
- Sorgeloos, P., 1979. The brine shrimp, *Artemia salina*: a bottleneck in mariculture? In: Advances in Aquaculture: papers presented at the FAO Technical Conference on Aquaculture, Pillay, T.V.R., Dill, Wm.A. (Eds.), FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan, 26 May–2 June 1976. 321–324.
- Sorgeloos, P., Léger, P., 1992. Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *Journal of the World Aquaculture Society* 23, 251–264.
- Sorgeloos, P., Coutteau, P., Dhert, P., Merchie, G., Lavens, P., 1998. Use of brine shrimp, *Artemia* spp., in larval crustacean nutrition: a review. *Reviews in Fisheries Science* 6, 55–68.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200, 147–159.
- Spotte, S., Anderson, G., 1988. Chemical decapsulation of resting cysts of the anostracans *Artemia franciscana* and *Streptocephalus seali* as revealed by scanning electron microscopy. *Journal of Crustacean Biology* 8, 221–231.

- Stael, M., Sanggontanagit, T., Van Ballaer, E., Puwapanich, N., Tunsutapanich, A., Lavens, P., 1995. Decapsulated cysts and *Artemia* flakes as alternative food sources for the culture of *Penaeus monodon* postlarvae, *In: Larvi'95 - Fish and Shellfish Larviculture Symposium*. Lavens, P., Jaspers, E., Roelants, I. (Eds.), Gent, Belgium. European Aquaculture Society, Special publication 24, 342–345.
- Tinh, N.T.N., Dierckens, K., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2008. A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Marine Biotechnology* 10, 1–12.
- Touraki, M., Niopas, I., Kastritsis, C., 1999. Bioaccumulation of trimethoprim, sulfamethoxazole and N-acetyl-sulfamethoxazole in *Artemia* nauplii and residual kinetics in seabass larvae after repeated oral dosing of medicated nauplii. *Aquaculture* 175, 15–30.
- Treece, G.D., 2000. *Artemia* production for marine larval fish culture. Southern Regional Aquaculture Center Publication 702.
- Triantaphyllidis, G.V., Criel, G.R.J., Abatzopoulos, T.J., Thomas K.M., Peleman, J., Beardmore, J.A., Sorgeloos, P., 1997. International Study on *Artemia*. LVII. Morphological and molecular characters suggest conspecificity of all bisexual European and North African *Artemia* populations. *Marine Biology* 129, 477–487.
- Triantaphyllidis, G.V., Abatzopoulos, T.J., Sorgeloos, P., 1998. Review of the biogeography of the genus *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *Journal of Biogeography* 25, 213–226.
- Tunsutapanich, A., 1979a. An improved technique for decapsulation and preservation of *Artemia* cysts (brine shrimp eggs) developed at the Chachoengsao Fisheries Station. FAO Working Paper, THA/75/008/79/WP/6.
- Tunsutapanich, A., 1979b. Cyst production of *Artemia salina* in salt ponds in Thailand. FAO Working Paper, THA/75/008/79/WP/9.
- Vanhaecke, P., Sorgeloos, P., 1980. International Study on *Artemia*. XIV Growth and survival of *Artemia* larvae of different geographical origin in a standard culture test. *Marine Ecology Progress Series* 3, 303–307.
- Vanhaecke, P., Cooreman, A., Sorgeloos, P., 1981. International study on *Artemia*. XV. Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. *Marine Ecology Progress Series* 5, 111–114.
- Vanhaecke, P., Sorgeloos, P., 1982. International study on *Artemia*. XVIII. The hatching rate of *Artemia* cysts – A comparative study. *Aquacultural Engineering* 1, 263–273.
- Vanhaecke, P., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1983. International study on *Artemia*. XVII. Energy consumption in cysts and early larval stages of various geographical strains of *Artemia*. *Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique* 113, 155–164.
- Vanhaecke, P., Tackaert, W., Sorgeloos, P., 1987. The biogeography of *Artemia*: an updated review, *In: Artemia research and its applications: 1. Morphology, genetics, strain characterization, toxicology*. Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W., Jaspers, E. (Eds.). Proceedings of the Second International Symposium on the brine shrimp *Artemia*. Universa Press, Wetteren, Belgium, 129–155.
- Vanhaecke, P., De Vrieze, L., Tackaert, W., Sorgeloos, P., 1990. The use of decapsulated cysts of the brine shrimp *Artemia* as direct food for carp *Cyprinus carpio* L. larvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 21, 257–262.
- Van Stappen, G., 1996a. Introduction, biology and ecology of *Artemia*, *In: 361 Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome, 79–106.
- Van Stappen, G., 1996b. Use of cysts, *In: 361 Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome, 107–136.
- Van Stappen, G., Fayazi, G., Sorgeloos, P., 2001. International study on *Artemia* LXIII. Field study of the *Artemia urmiana* (Günther, 1890) population in Lake Urmiah, Iran. *Hydrobiologia* 466, 133–143.

- Vismara, R., Vestri, S., Kusmic, C., Barsanti, L., Gualtieri, P., 2003. Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. *Journal of Applied Phycology* 15, 75–80.
- Vos, J., 1979. Brine shrimp (*Artemia salina*) inoculation in tropical salt ponds: a preliminary guide for use in Thailand. FAO Working Paper THA/75:008/79/WP/4.
- Vos, J., De La Rosa, N. L., 1980. Manual on *Artemia* production in salt ponds in the Philippines. FAO/UNDP-BFAR Project Manual, PHI/75/005/WP6, 48 s.
- Weirich C.R., Reigh R.C., Glenn D.W. III, 2000. Evaluation of decapsulated *Artemia* cysts in hatchery diets for channel catfish *Ictalurus punctatus* fry and effects on subsequent fingerling production. *Journal of World Aquaculture Society* 31, 609–617.
- Woods, C.M.C., 2003. Effects of varying *Artemia* enrichment on growth and survival of juvenile seahorses, *Hippocampus abdominalis*. *Aquaculture* 220, 537–548.
- Xin, N., Sun, J., Zhang, B., Triantaphyllidis, G.V., Van Stappen, G., Sorgeloos, P., 1994. International study on Artemia. LI. New survey of *Artemia* resources in the People's Republic of China. *International Journal of Salt Lake Research* 3, 105–112.
- Yamasaki, T., Aki, T., Mori, Y., Yamamoto, T., Shinozaki, M., Kawamoto, S., Onu, K., 2007. Nutritional enrichment of larval fish feed with Thraustochytrid producing polyunsaturated fatty acids and xanthophylls. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 104, 200–206.

6. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Szlaminska, M., Gela, D., 1999. Přežití a růst raného plůdku kapra různého genetického původu při dlouhodobém působení suboptimálních a letálních teplot. In: Spurný, P. (Ed.) „50 let výuky specializace na MZLU v Brně“, ÚRH MZLU, Brno, 58–64.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Szlaminska, M., Gela, D., 1999. The effect of low temperature on survival and growth of larvae of two different strains of common carp (*Cyprinus carpio*) and their reciprocal hybrids. In: Laird, L.; Reinertsen, N. (Eds.): Towards predictable quality; Oostende, Belgium. European Aquaculture Society, Special publication 27, 81–82.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Szlaminska, M., Gela, D., Policar, T., Lepičová, A., Lepič, P., 1999. Ustojčivost' ličinek karpá (*Cyprinus carpio*) k nízkým teplotám v závislosti ot' vzrasta, vremeni ekpoziciji i genetičeskogo proischožđenija. In: Serjakov, I.S., Marusič, A.G. (Eds.): Sovremennyye sostojanije i perspektivy razvitiya akvakultury. Belorusskaja sel'skochozjajstvennaja akademija, Gorki, Belarus, 52–53.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Sedova, M., Lepič, P., Lepičová, A., Gela, D., 1999. Akutní toxicita NaCl pro raný plůdek kapra obecného (*Cyprinus carpio*) různého genetického původu. In: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Dočkal, P., Maszjarová, E. (Eds.), Soláň, VÚRH JU, Ostrava, Aquachemie 185–188.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Lepičová, A., Kozák, P., Lepič, P., Policar, T., Bláha, L., Gela D., 2000. The influence of genetic origin and age in common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae upon their tolerance to one-day decrease of water temperature. In: Sb. abstr. Aqua 2000, Nice, France, European Aquaculture Society, Special publication 28, Oostende, Belgium, 264.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Kozák, P., Kouřil, J., Policar, T., Lepič, P., 2000. Tolerance raného plůdku kapra obecného, amura bílého, a tolstolobika bílého k různým hodnotám pH. GnRH. In: IV. české ichtyologické konference. Mikešová, J. (Ed.), 2000, Vodňany, 231–234.

- Hamáčková, J., Kouřil, J., Lepičová, A., Kozák, P., Policar, T., Lepič, P., 2001., Teplotní tolerance raného plůdku některých kaprovitých ryb. *In: Ochrana zdraví ryb*. Kolářová, J. a kol. (Eds.), VÚRH JU Vodňany, 81–85.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., Prokeš, M., Stanny, L.A., 2005. Rearing success in ide, *Leuciscus idus*, fry culture with different duration of initial feeding with live food. *In: New challenges in Pond Aquaculture. Book of Abstracts*, Adámek, Z. (Ed.), České Budějovice, April 26–28 2005, 56.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., Stanny, L.A., 2005. Odkrm larev podoustve říční (*Vimba vimba*) naupliemi žábronožky solné a startérovým krmivem v experimentálních podmínkách – předběžné výsledky. *In: VIII. Česká ichtyologická konference*. Spurný, P. (Ed.), MZLU Brno 14.–15. září 2005. 209–214.
- Hamáčková, J., Lepič, P., Policar, T., Kozák, P., Stanny, A.L., 2006. Vliv intervalu krmení na počáteční růst podoustve říční (*Vimba vimba* L.). *Bulletin VÚRH Vodňany* 1, 3–8.
- Hamáčková, J., P., Policar, Kozák, P., Lepič, Stanny, A.L., 2006. Intensywny chów larw i młodocianych form certy (*Vimba vimba*) od początku odżywiania egzogenego. *In: Wygarnia 2006 - Ryby Karpowate*, Book of Abstracts 14–15.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Masár, J., Turanský, R., 2007. Technologie chovu keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). *Edice Metodik (technologická řada) VÚRH JU Vodňany* 79, 22 s.
- Hamáčková, J., Lepičová, A., Prokeš, M., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., Stanny, A.L., 2007. Success of nursing ide (*Leuciscus idus*, L.) fry related to the period of feeding with live food. *Aquacult International* 15, 255–265.
- Hamáčková, J., Kozák, P., Koubá, A., Lepič, P., 2008. Sledování růstu larev podoustve říční (*Vimba vimba*) při krmení naupliemi a dekapulovanými vajíčky *Artemia salina*, *Bulletin VÚRH Vodňany*, 65–69.
- Hamáčková, J., Kozák, P., Lepič, P., Kouřil, J., 2008. Umělá reprodukce a odchov násadového materiálu podoustve říční. *Edice Metodik (technologická řada), VÚRH JU Vodňany* 82, 14 s.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Adámek, Z. 2008. Řízená reprodukce a odchov plůdku jelce jesena (*Leuciscus idus*). *Edice Metodik (technologická řada), VÚRH JU Vodňany* 84, 12 s.
- Hamáčková, J., Prokeš, M., Kozák, P., Peňáz, M., Stanny, L.A., Policar, T., Baruš, V., 2009. Growth and development of vimba bream (*Vimba vimba*) larvae related to the time period of feeding with live and dry starter feeds. *Aquaculture* 287, 158–162.
- Lepičová, A., Hamáčková, J., Lepič, P., 2002. Počáteční odkrm plůdku jelce proudníka (*Leuciscus leuciscus* L.). *In: Produkce násadového materiálu ryb a raků*. Vykusová, B. (Ed.), Vodňany 2.-3.5.2002, VÚRH JU Vodňany, 40–45.
- Lepičová, A., Hamáčková, J., Lepič, P., 2002. Odchov raného plůdku jelce proudníka (*Leuciscus leuciscus* L.) v kontrolovaných podmínkách. *Bulletin VÚRH Vodňany* 1, 16–23.
- Lepičová, A., Adámek, Z., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepič, P., 2004. Určení doby průchodu potravy trávicím traktem larev jelce proudníka (*Leuciscus leuciscus*) v laboratorních podmínkách. *In: VII. česká ichtyologická konference*. Vykusová, B. (Ed.), Vodňany 6.–7.5.2004, VÚRH JU Vodňany, 84–86.
- Lepičová, A., Hamáčková, J., Kozák, P., Policar, T., Lepič, P., Stanny, L.A., 2004. Podchów wylęgu jelce (*Leuciscus leuciscus* L.) przy karmieniu starterami. *In: Karpowate ryby reofilne*, Book of Abstracts, Warszawa 30.6.–2.7.2004, SGGW, s. 9.
- Policar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Kouřil, J., 2004. Vliv délky období živého krmení na přežití a růst larev jesetera sibiřského (*Acipenser baerii*). *In: Sborník referátů z konference: 55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně*. Spurný, P. (Ed.), Brno 30.11.-1.12.2004, Czech Republic, 90–98.
- Policar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Stanny, L.A., 2004. Odchov juvenilní parmy obecné (*Barbus barbus* L.) při použití různých startérových krmiv. *In:*

- VII. česká ichtyologická konference. Vykusová, B. (Ed.), Vodňany 6.-7.5.2004, VÚRH JU Vodňany, 234–238.
- Polícar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Kouřil, J., Stanny, L.A., 2005. Intensive rearing of common barbel (*Barbus barbus*) juvenile for stocking purpose. In: New challenges in Pond Aquaculture. Book of Abstract. Adámek, Z. (Ed.), České Budějovice, April 26–28 2005, 45.
- Polícar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Vorlíčková, P., Kouřil, J., 2006. Intensywny wychów brzany (*Barbus barbus*) w warunkach kontrolowanych od początku odżywiania egzogenego do uzyskania dojrzałości płciowej. In: Rozrod, podchow, profilaktyka ryb karpioatych i innych gatunków. Zakes, Z., Demska-Zakes, K., Wolnicki, J. (Eds.). 127–133.
- Polícar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Musil, J., Kouřil, J., 2007. Effects of short-time *Artemia* spp. feeding in larvae and different rearing environments in juveniles of common barbel (*Barbus barbus*) on their growth and survival under intensive controlled conditions. Aquatic Living Resources 20, 175–183.
- Szlaminska, M., Weglenska, T., Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Adámková, I., 1998. Passage time of *Artemia* nauplii through the gut of tench (*Tinca tinca* L.) larvae at 22 °C. Czech Journal of Animal Science 43, 521–523.
- Szlaminska, M., Zarubov, A., Hamáčková, J., Kouřil, J., Vachta, R., Adámková, I., Muñoz-Asenjo, C., 1999. Food passage and food selectivity of Tench (*Tinca tinca* L.) larvae fed zooplankton. Acta ichthyologica et piscatoria, Vol. XXIX, Fasc. 1, Szczecin 1999, 41–47.
- Vorlíčková, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Lepič, P., Kozák, P., Polícar, T., Stanny, L. A., 2006. Intensywny podchów larw brzany (*Barbus barbus*) przy różnym okresie początkowego żywienia pokarmem żywym przed przejściem na starter. In: Rozrod, podchow, profilaktyka ryb karpioatych i innych gatunków. Zakes, Z., Demska-Zakes, K., Wolnicki, J. (Eds.), Niedzica k. Czorsztyna, Poland, 14.- 16.9.2006, 121–126.
- Vorlíčková, P., Polícar, T., Hamáčková, J., Kozák, P., 2006. Vliv rozdílné potravy používané při odchovu palem obecných v kontrolovaných podmínkách na vývoj jejich gonád. Bulletin VÚRH Vodňany 1, 25–32.

Oponent za státní správu

Ing. Vladimír Gall
MZe Praha
Odbor rybářství, myslivosti a včelařství (16230)
Těšnov 17
117 05 Praha 1

Odborný oponent

doc. Dr. Ing. Jan Mareš, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Agronomická fakulta,
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství; Zemědělská 1, 613 00 Brno

Osvědčení o uplatněné certifikované metodice č. 8/565441637/2009-16230 ze dne 10. 3. 2010

Vydalo: Ministerstvo zemědělství, úsek lesního hospodářství, sekce lesního hospodářství,
odbor rybářství, myslivosti a včelařství, Těšnov 17, 117 05 Praha 1

Adresa autorů

Ing. Antonín Kouba (koubaa00@vurh.jcu.cz)
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D. (kozak@vurh.jcu.cz)
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný
ústav rybářský a hydrobiologický, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

Ing. Jitka Hamáčková (hamackova@vurh.jcu.cz)
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Experimentální rybochovné pracoviště a pokusnictví
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

V Edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Fakulta rybářství a ochrany vod – Náklad: 200 ks, předáno do tisku květen 2010 – Technická
realizace: PTS spol. s r. o. Vodňany.