



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

TECHNICKÁ ZPRÁVA PROJEKTU

Název projektu:

Ověření možnosti zlepšení welfare ryb při výlovu rybníku

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/18_013/0000792



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

Příjemce (veřejnoprávní subjekt):

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

Adresa: Branišovská 1645/31a

IČ: 60076658

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/18_013/0000792

Název projektu: Ověření možnosti zlepšení welfare ryb při výlovu rybníku.

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

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

Provozní subjekt (podnik akvakultury spolupracující na projektu s příjemcem):

Název nebo obchodní jméno: ŠTIČÍ LÍHEŇ – ESOX, spol. s r.o.

Adresa: Jordánská 366/1, 390 01 Tábor

IČ: 43832946

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

Ing. Mgr. Oldřich Pecha

Zpracovatel technické zprávy projektu:

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

Adresa: Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany

IČ: 60076658

Místo a datum zpracování technické zprávy: České Budějovice, 29. 1. 2021

Jména a příjmení osob, které zpracovaly technickou zprávu:

Ing. Ján Regenda, Ph.D.

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

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

Souhlas s publikací technické zprávy:

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

1. Příjemce dotace (veřejnoprávní subjekt):

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

2. Partnera projektu (podnik akvakultury):

Ing. Mgr. Oldřich Pecha

3. Zpracovatele technické zprávy:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



Obsah

1 Cíl	5
1.1 Co bylo cílem projektu	5
1.2 V čem tkví inovativnost testované technologie	5
1.3 Proč je nutná inovace, která byla předmětem testování	5
2 Úvod	6
3 Materiál a metodika	8
3.1 Aerační vložka pro rybářskou kád' – princip fungování a popis	8
3.2 Provedení experimentů	11
3.3 Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody	18
3.4 Laboratorní měření kvality vody	19
3.5 Odběr krve a hematologické vyšetření ryb	20
3.6 Odběr a analýza tkání	21
3.7 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení	22
4 Výsledky	23
4.1 První experiment 3. 12. 2019 – tržní kapr	23
4.1.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	23
4.1.2 Laboratorní analýza vody	24
4.1.3 Dílčí zhodnocení experimentu	26
4.2 Druhý experiment 31. 3. 2020 – tržní kapr	26
4.2.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	27
4.2.2 Laboratorní analýza vody	29
4.2.3 Analýza krve	30
4.2.4 Analýza tkání	30
4.2.5 Dílčí zhodnocení experimentu	31
4.3 Třetí experiment 31. 3. 2020 – násadový kapr	32
4.3.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	33
4.3.2 Laboratorní analýza vody	35
4.3.3 Analýza krve	36
4.3.4 Analýza tkání	36
4.3.5 Dílčí zhodnocení experimentu	37
4.4 Čtvrtý experiment 31. 3. 2020 – štika	39
4.4.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	39
4.4.2 Laboratorní analýza vody	41
4.4.3 Analýza krve	42
4.4.4 Analýza tkání	42
4.4.5 Dílčí zhodnocení experimentu	43
4.5 Pátý experiment 13. 10. 2020 – násadový kapr	45
4.5.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	45
4.5.2 Laboratorní analýza vody	51
4.5.3 Analýza krve	52
4.5.4 Analýza tkání	53
4.5.5 Dílčí zhodnocení experimentu	54
4.6 Šestý experiment 3. 12. 2020 – tržní kapr	55
4.6.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností	55
4.6.2 Laboratorní analýza vody	57



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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

4.6.3 Analýza krve	58
4.6.4 Analýza tkání	59
4.6.5 Dílčí zhodnocení experimentu	59
4.7 Celkové zhodnocení experimentů	61
4.7.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností – celkově	61
4.7.2 Laboratorní analýza vody – celkově	63
4.7.3 Analýza krve – celkově	64
4.7.4 Analýza tkání – celkově	65
5 Závěr	67
6 Seznam literatury	68
7 Seznam tabulek, grafů a obrázků	69
8 Přílohy	72



1 Cíl

1.1 Co bylo cílem projektu

Cílem projektu bylo testování inovativní konstrukce aerační vložky pro rybářskou kád'. Konstrukce vložky je chráněna českým patentem č. 308 381. Tato aerační vložka je navržena tak, že je použitelná do běžné rybářské kádě, bez nutnosti její jakékoli další úpravy. Pomocí vložky je tak možné bezpečně provádět vzduchování, resp. vzduchování a oxygenaci vody v kádi. Díky tomu dochází ke zlepšení welfare ryb při výloveh nebo třídění. V rámci projektu byly tedy sledovány změny kvality vody v rybářských kádích a fyziologického stavu ryb po hodinové expozici v standardních kádích a kádích s dvěma typy aeračních vložek. V rámci projektu bylo primární snahou prokázání účinnost aerační vložky pro rybářskou kád' s ohledem na zlepšování welfare ryb při jejich krátkodobém skladování. Tyto zkušenosti mohou v budoucnu zlepšit welfare ryb při výloveh nebo vánočním prodeji a snížit úhyny ryb. Sekundárně může aerační vložka rovněž omezit náklady na dopravu zejména doplňkových ryb (menší nutnost odvozu ryb z vedlejšího braku), resp. spotřebu pitné vody při předvánočních prodejk. Tento projekt umožňuje získat potřebné informace pro zavedení perspektivní inovace, u tak historicky jednoduchého a konzervativního výrobku, jakým obyčejná rybářská kád' je.

1.2 V čem tkví inovativnost testované technologie

Inovativnost spočívá v ověření zcela nové a unikátní konstrukce aerační vložky, která je patentově chráněná. V současnosti se připravuje patentová ochrana v zahraničí (schválena Evropská PTC přihláška). Výhodou aerační vložky je skutečnost, že je použitelná do jakékoli rybářské kádě, bez potřeby její další větší úpravy. Umístěním vložky do kádě dojde jen k minimálnímu zmenšení objemu vody určenému pro ryby. Difuzory plynů jsou umístěny pod dnem vložky, takže nepotřebují zátěž. Vložka rovněž umožňuje bezproblémové chytání ryb ručním nářadím, bez rizika zranění ryb nebo omezování jejich pohybu. V meziprostoru dna kádě a dna vložky vzniká relativně klidová zóna, která umožňuje sedimentaci nerozpuštěných látek. Vložky je možné v kádi používat podle potřeby.

1.3 Proč je nutná inovace, která byla předmětem testování

Při výloveh rybníků, předvánočním prodeji ryb, resp. obecně při manipulaci s rybami dochází k nutnosti jejich krátkodobého skladování. S ohledem na skutečnost, že je potřeba ryby umístit jen dočasně a po relativně krátkou dobu, jsou k tomuto účelu využívány po staletí rybářské kádě. Konstrukce kádě se dlouhodobě nemění, v čase se mění jen materiál, ze kterého je vyráběna (dřevo – laminát – polypropylén). Nicméně legislativní i praktické důvody vedou v poslední době rybáře k nutnosti věnovat se v průběhu celého procesu chovu a prodeje stále více welfare ryb. Proto jsou v praxi zaváděny různé vylepšení v podobě vzduchovacích hadic nebo proplachu kádí vodou. Prosté umístění vzduchovacích nebo oxygenačních hadic do kádě je sice možné, ale je spojené obvykle s nutností adekvátní zátěže, jenž už může ryby zraňovat, resp. omezovat v pohybu. Při lovení ryb z takovéto kádě je nutné zátěž společně s hadicemi odstranit. Což je nepraktické a na kádišti to omezuje pohyb. Průplach kádí čistou vodou je na malých rybnících prakticky nemožný, neboť tam chybí její zdroj. Aerační vložka pro rybářskou kád' je tak ideálním řešením problému se zlepšováním kyslíkového režimu ryb a tím i jejich welfare, které navíc není nikterak omezující.



2 Úvod

Při výlovehy rybníků dochází k manipulaci s rybami, která je doprovázena krátkodobým zhoršením životních podmínek ryb. Ryby jsou vystaveny stresu, jenž způsobuje nashromáždění v malém prostoru, nedostatek kyslíku, pokles pH, zvýšení množství nerozpuštěných látek apod. I když je doba výlovu relativně krátká (řádově hodiny), v určitých obdobích dochází k výraznému poklesu množství kyslíku ve vodě (i pod 10 %). Rizika spojená s výlovem ryb a manipulacemi s nimi popisuje Čítek a kol. (1998). Chovatelé ryb se tak snaží zabezpečit rybám nejnutnější úroveň jejich fyziologických nároků (Pavlíček, 2012; Hartman a Regenda, 2016). Využívány jsou různé aerátory, stříky, případně vzduchování, které zlepšují kyslíkový režim v lovišti a síti s rybami.

Podmínkám kvality vody v průběhu výlovu rybníků se věnoval Pavlíček (2012). Ten měřil kvalitu vody v lovišti a v rybářské síti. Zjistil, že množství kyslíku v síti obvykle neklesá pod 1 mg.l⁻¹, nicméně své měření prováděl na větších rybnících, které byly vybaveny stříkem a další mechanizací (čerpadly). Situace při výlovu menších rybníků, kterých je v naší krajině většina, však může být pro ryby mnohem náročnější. Ryby (kapr) obvykle snesou krátkodobý deficit kyslíku, ale tento „dluh“ je potřeba bezprostředně poté „splatit“. Ryby vylovené ze sítě jsou po roztřídění umístěny na krátkou dobu do kádě. Tam setrvávají do doby naložení na nákladní automobil. Tato fáze výlovu bývá pro ně obvykle náročná. Zejména na malých rybnících totiž chybí možnost obměny vody v kádích v průběhu výlovu. V čase se tak postupně zvyšuje biomasa ryb v kádích a kvalita vody se naopak výrazně snižuje. Zatímco hlavní ryba se zdrží v kádích jen několik málo minut, a poté je nakládána na auto do čisté vody s prokysličováním, ryby na vedlejším braku jsou v kádích skladovány výrazně delší dobu. Doplnkové druhy ryb, jež jsou na výlovu zastoupeny v menším objemu, jsou odváženy z výlovu s nižší frekvencí s ohledem na optimalizaci využití dopravy. U těchto ryb je tedy největší prostor pro zlepšování jejich welfare.

V některých případech, zejména při přepravě ryb se ukazuje, že problematické může být naopak i přesycení vody kyslíkem. Palíkova a kol., (2019) uvádějí jako rizikové překročení 250–300 % nasycení vody kyslíkem. K tomuto stavu dochází nejčastěji díky vysokému tlaku atmosféry O₂ v polyetylenových vacích při přepravě plůdku. Nebo při technické závadě (pochybení obsluhy) dávkování kyslíku do přepravní bedny.

V poslední době se stává celospolečensky citlivou otázkou welfare ryb. Podrobnější vhled do této problematiky přináší Huntingford a kol. (2006), kteří podrobněji rozebírají všechny hlediska welfare ryb. Poněkud praktičtěji popisuje problematiku welfare ryb v jednotlivých aspektech chovu Conte (2004). Otázkou welfare ryb při chovu a výlovu se zabývají rovněž Lines a Spence (2012) a EFSA (2009), nicméně se věnují především popisu vlastního procesu výlovu ryb, a s tím spojené manipulace, a definují rizika pro ryby z hlediska narušení jejich welfare. Poněkud přesnější vhled do problematiky welfare ryb v kontextu našeho rybníkářství přináší dokument EFSA (2008), který podrobně rozebírá jednotlivé aspekty rizik na zdraví a welfare ryb. Na příkladu firmy Rybníkářství Pohořelice, a.s. popisují problematiku welfare ryb v podmínkách ČR Bušová a kol. (2014).

Otázkou fyziologického stavu ryb při přepravě a s ní spojenou manipulací se v poslední době věnovali Dobšíková a kol., (2006, 2009). Jejich práce se věnovali vlivu dálkové přepravy ryb na změnu kvality vody a změny vybraných biochemických a hematologických parametrů. Tyto studie však uvádějí, že stres spojený s manipulací a nakládkou ryb je velmi výrazným a důležitým faktorem, který může ovlivňovat přepravu ryb. Svobodová a kol., (2006) zkoumala změnu vybraných hematologických a biochemických parametrů tržních kaprů v čase 28 dní



před výlovem, při třech dnech výlovu a 28 dní po výlovu. Zjistili, že v průběhu výlovu rybníka dochází u ryb k průkazným změnám řady parametrů ve srovnání s obdobím před výlovem. Nicméně tyto hodnoty se v průběhu sádkování vrací do původní úrovně.

Zdravotní problematika chovu ryb je legislativně v ČR ošetřena veterinárním zákonem č. 166/1999 Sb. V § 4 je chovateli dána povinnost chovat zvířata způsobem, v prostředí a podmínkách, které vyžadují jejich biologické potřeby, fyziologické funkce a zdravotní stav a předcházet poškození jejich zdraví. K ochraně zvířat před týráním byl v ČR přijat speciální zákon již v roce 1992 (Zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání), který zakazuje provádět na živých rybách některé činnosti, jež působí bolest (§ 4, odst. 1, písm. u). Tento zákon rovněž upravuje problematiku usmrcování ryb (§ 5i) a jeho prováděcí vyhláška č. 418/2012 Sb. přesně definuje poměr hmotnosti vybraných druhů živých ryb a vody (hustotu obsádky) v kádích a příručních nádržích, včetně nejnižšího množství kyslíku ve vodě a teploty vody. Podle přílohy č. 5 je tak možné na 1 m³ vody umístit při teplotě vody 0–5 °C 1 200 kg, 5–10 °C 1 000 kg a 10–15 °C 700 kg kaprovitých ryb. Nejnižší přípustné nasycení vody má být pro kaprovité ryby 70 % při teplotě vody 10–15 °C (léto), resp. 40 % při teplotě vody 0–10 °C (zima). Současným trendem v oblasti veterinární medicíny je dbát na ochranu zdraví a welfare ryb.

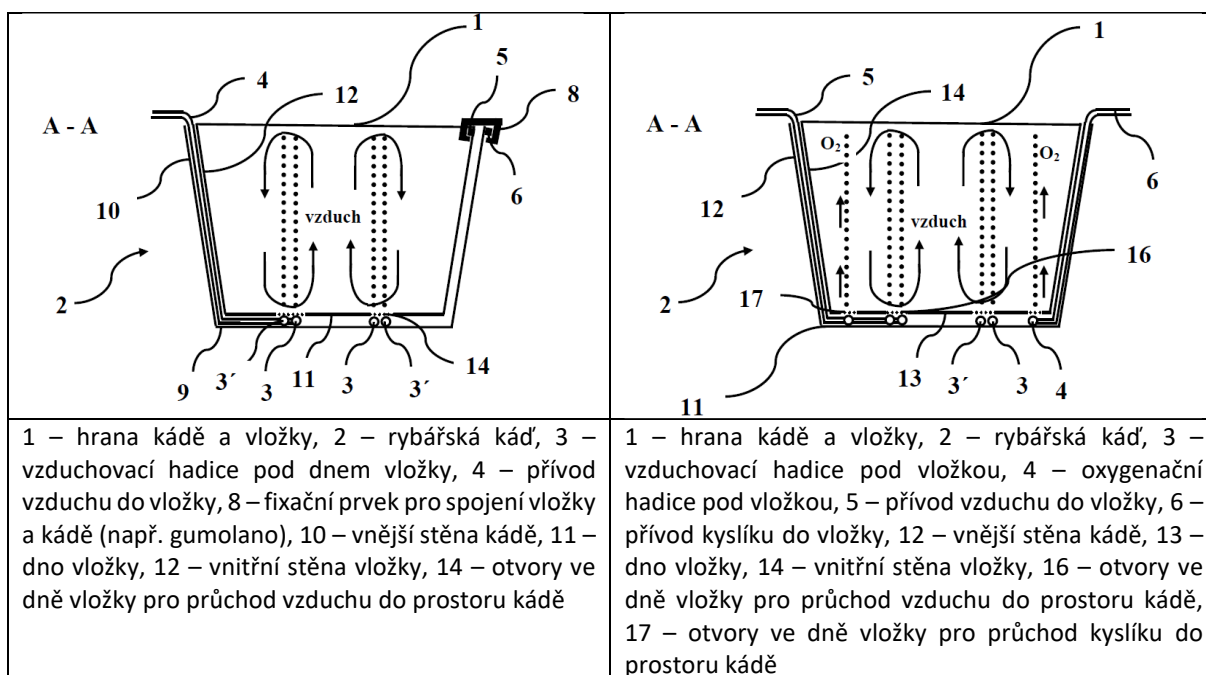


3 Materiál a metodika

V průběhu řešení tohoto projektu reg. č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/18_013/0000792 „Ověření možnosti zlepšení welfare ryb při výlovu rybníku (9/2019–12/2020) bylo celkem realizováno šest poloprovozních experimentálních aktivit. Do realizace projektu negativně zasáhla rovněž aktuální pandemie Coronaviru v rámci, které bylo omezeno setkávání lidí. Naše pracovní kontakty, byly proto minimalizovány a v maximální možné míře koncentrovány (zejména na jaře 2020).

3.1 Aerační vložka pro rybářskou kád' – princip fungování a popis

V rámci projektu byly používány nové standardní laminátové kádě o objemu 550 l (průměr nahoře 128 cm, dole 100 cm, výška 61 cm), celkem 9 ks (dodavatel: Služby rybářství Ing. Hynek Chromý). Do těchto kádí byly umístěny aerační vložky vyrobeny z polypropylenu, celkem 6 ks. Vložky byly testovány ve dvou provedeních, a to pouze s aerací (3 ks) a s aerací a oxygenací (3 ks). Aerační vložky vyrobila pro potřeby tohoto projektu firma „FISHPLANT.CZ“ (divize firmy – Ryby Vlček). Aerační vložka s oxygenací je chráněna českým patentem č. 308 381. Principem fungování vložek je, že vzduchovací hadice je umístěná uprostřed vložky (pod jejím dnem) a proud vzduchu zvedá vodu v kádi a promíchává jí. Ve variantě s oxygenací je po obvodu vložky, pod jejím dnem umístěna ještě oxygenační hadice. Voda zvednutá vzduchem uprostřed kádě se zanořuje ke dnu v prostoru obvodu kádě, právě proti stoupajícím bublinkám kyslíku. Tím se zvyšuje efektivita sycení vody kyslíkem. Princip fungování obou variant vložek je znázorněn na obrázku 1 a 2.



Obr. 1 Schéma fungování aerační vložky (vlevo) a aerační vložky s oxygenací (vpravo).



Obr. 2 Ukázka fungování aerační vložky s oxygenací (A - vzduchování, B - oxygenace, C - spolu).

Samotná vložka je vyrobena z tenkého polypropylenu, který svým tvarem věrně kopíruje formu rybářské kádě. Vložku je tak možné instalovat do kterékoli kádě bez dalších úprav. Přívod plynů k difúzním hadicím je veden prostorem mezi boční stěnou kádě a vložky. Pod dnem aerační vložky jsou umístěné difúzní hadice plynů, které nejsou ve styku s rybami. Průchod bublin plynu do prostoru s rybami je umožněn otvory vyvrtanými nad difúzními hadicemi. Díky tomu je objem kádě a vody pro ryby zmenšen jen ve velmi malém rozsahu. V meziprostoru dna kádě a vložky vzniká (klidné) místo s ustáleným průtokem ve kterém mohou za určitých okolností sedimentovat nerozpuštěné látky. Vlastní konstrukce aeračních vložek je vidět z obrázku 3. Jako zdroj kyslíku byla použita vždy tlaková láhev o objemu 20 l.



Obr. 3 Ukázka konstrukce a uspořádání rozvodů plynů na spodní straně aerační vložky (vlevo) a aerační vložky s oxygenací (vpravo) (foto J. Regenda).

V průběhu realizace projektu došlo k drobným úpravám vložek, resp. rozvodů plynů. K těmto úpravám nás motivovali prakticky získané zkušenosti a snaha řešit objevené technické problémy při experimentech č. 1 až 4. První problém se týkal difúze vzduchu. Na vložkách použité běžné porézní vzduchovací hadice (obvykle používané k aeraci v přepravních bednách na ryby, původně určené ke kapénkovým závlahám) se ukázali být pro použitý zdroj vzduchu jako nevyhovující. Množství vzduchu a možnost jeho regulace byla značně omezená. Proto došlo k výměně těchto hadic za jiné. Použili jsme zahradní hadici o průměru 16 mm (vnější), resp. 14 mm (vnitřní) do které byly vyvrtány ve dvou řadách dírký o průměru 0,8 mm ve vzdálenosti cca 1 cm od sebe. Následně byl vyroben centrální rozvod vzduchu s možností regulace výstupu pro každou vložku samostatně (obr. 4). Další úprava se týkala rozvodu a regulace kyslíku. V původním provedení byl průtokoměr na kyslík umístěn na samostatné desce individuálně pro každou vložku (kád') (viz. obr. 5).



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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



Obr. 4 Upravený centrální rozvod vzduchu (šedivé pastové trubky) a kyslíku (zelený box na kyslíkové lahvi) na rybníku Stará Komora (foto J. Regenda).



Obr. 5 Původní uspořádání rozvodu plynů s regulací průtoku kyslíku u kádě (viz. žlutá šipka), při experimentu č. 1, sádky Tábor (foto J. Regenda).



Toto uspořádané se ukázalo být jako nevyhovující. Destička, resp. průtokoměr se musí pro správné fungování udržovat ve svislé poloze, což je při volném zavěšení na hadici problematické. Další komplikací představuje nechráněný průtokoměr pro řízení průtoku kyslíku, se kterým bylo snadné nechtěně manipulovat (např. při těsném průchodu kolem kádě). Z těchto důvodů bylo přistoupeno k umístění průtokoměrů pro všechny vložky do společného chráněného „domečku“, který se upoutal přímo na tlakovou láhev (obr. 4). Díky tomu byl rozvod kyslíku do kádí mnohem bezpečnější, a snadněji se reguloval. Využity byly rovněž tři nové rozvodné hadice na plyn (délka 3 m, 5 m a 8 m) o průměru 15 mm (vnější), resp. 8 mm (vnitřní). Rovněž došlo k nahrazení části původních mosazných „rychlospojek“ za plastové: vzduch – na zahraniční hadice a kyslík – nástrčné spojky JOHN GUEST. Pro lepší orientaci při seřizování množství plynů byly konce hadic na vzduch i kyslík barevně rozlišeny (různé barvy izolačních pásky).

3.2 Provedení experimentů

V rámci prováděných experimentů byla sledována účinnost dvou typů aeračních vložek pro rybářskou kád', srovnávaná se standardní rybářskou kádí. Všechny experimenty byly provedeny ve třech variantách: standardní rybářská kád' (**k**), rybářská kád' s aerační vložkou (**v**), rybářská kád' s aerační vložkou s oxygenací (**o**).

Experiment č. 1

První experiment byl proveden 28. listopadu 2019 na sádkách v Táboře. Cílem tohoto experimentu bylo primárně vyzkoušet funkčnost technologie aeračních vložek a navrženou metodiku provádění experimentu. Měřeny byly proto pouze parametry kvality vody. K odběru vzorků krve a tkání ryb nebylo pro vysoké náklady v tomto prvním experimentu přistoupeno. Snahou bylo ověřit, že vše funguje dle předpokladu a dizajn experimentu je proveditelný. Jako zdroj vzduchu bylo použito pro každou variantu samostatné membránové dmychadlo (SECOH JDK-8-80, o průtoku vzduchu 75 l/min., 50–55 W, 20 kPa pro varianta **o**, resp. SECOH-EL-S-80-15, o průtoku vzduchu 80 l/min. 110–120 W, 14,7 kPa varianta **v**), ze které byl stlačený vzduch rozváděn prostřednictvím rozvojek do jednotlivých vložek, bez možnosti regulace.

Do experimentu byl použit čtyřletý kapr šupinatý o průměrné kusové hmotnosti 2,1 kg, slovený dne 4. 11. 2019 v rybníku Mučírna velká, který byl následně umístěn do sádky č. 9.

Experimentu byl založen ve třech opakováních v každé variantě. Jednotlivé kádě a kádě s vložkami byly umístěny v sádce č. 9, společně s kapry (viz. obrázek 6). Do jedné kádě bylo umístěno vždy 200 kg ryb (biomasa 363,63 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 10:30–10:35 a ukončena již po 30 minutách s ohledem na nedostatek kyslíku v kádích (očekávaný stav). Varianta **v** byla nasazena v 10:45–10:50 a varianta **o** v 11:00–11:05 (dávkování O₂ nastaveno na 0,2–0,3 l.min⁻¹). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách (dle plánu). Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut. Po experimentu byly ryby z kádí umístěny do sádky č. 10. Několik dní po experimentu (týden) byl zjištěn v sádce úhyn celkem 6 ks ryb. Nicméně v sádce byly v danou dobu umístěny ryby ze všech variant společně, rovněž s rybami do experimentu nezařazenými. Rozlišení původu uhynulých ryb (varianty) tak nebylo možné provést. Rozsah těchto ztrát je možné považovat za „normální“ s ohledem na zvýšenou manipulaci s rybami.



Obr. 6 Celkový pohled na sádku č. 9 při prvním experimentu s nasazením tržních kaprů dne 28. 11. 2019, na levé straně je varianta o, na pravé straně vzadu varianta v a v popředí pravé strany je varianta k (foto J. Regenda).

S ohledem na propuknutí pandemie viru COVID-19, bylo plánované testování aeračních vložek na jaře 2020 koncentrováno do jediného dne, z důvodu omezení rizika přenosu nemoci. Ze stejného důvodu neprobíhalo testování přímo na rybnících, ale na sádkách v Táboře, díky čemuž se minimalizoval počet lidí, kteří byli experimentům přítomni. Tato skutečnost vedla k tomu, že nebylo organizačně a technicky možné výsledky zjištěné v jednotlivých experimentech promítnout do těch bezprostředně následujících. Termín testování byl volen s ohledem na průběh jarních výlovů a přítomnost všech požadovaných ryb (K_t , K_2 , $\check{S}_t$) na sádkách. Nicméně se ukázalo, že s ohledem na průběh výtěrové sezóny štiky, bylo množství dostupných ryb tohoto druhu nižší, než se původně očekávalo.

Diagram organizace experimentů č. 2 až 4 na sádkách v Táboře, dne 31. 3. 2020

		9:00-10:00	10:00-11:00	11:00-12:00	12:00-13:00	13:00-14:00	14:00-15:00	15:00-16:00	16:00-17:00
Experiment č. 2 K_3	k								
	v								
	o								
Experiment č. 3 K_2	k								
	v								
	o								
Experiment č. 4 $\check{S}_t$	k								
	v								
	o								



Experiment č. 2

Druhý experiment byl proveden 31. března 2020 na sádkách v Táboře. Kádě pro experimenty č. 2 až 4 byly umístěny na břehu mezi sádkami č. 9 a 10 (viz. obr. 7). Do experimentu byl použit čtyřletý kapr šupinatý o průměrné hmotnosti 2,14 kg, slovený dne 10. 3. 2020 v rybníku Košín, který byl následně umístěn do sádky č. 10. Jako zdroje vzduchu byl využit centrální rozvod vzduchu po sádkách. Ten je napájen dmychadlem Dutair-DB-415, 257 m³/h, 1 500 W.

Experiment byl založen ve třech opakováních v každé variantě. Do jedné kádě bylo umístěno vždy 60 kg ryb (biomasa 109 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 9:10–9:15 a ukončena po 45 minutách (10:00) s ohledem na nedostatek kyslíku v kádích (očekávaný stav). Varianta **v** byla nasazena v 9:50–9:55 a varianta **o** v 10:40–10:45 (dávkování O₂ nastaveno na 0,2–0,3 l.min⁻¹). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách (dle plánu) v čase 10:55 a 11:45.

Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut, resp. u varianty **k**, byl odebrán poslední vzorek po 15 minutách (ukončení varianty v 45'). Po experimentu byly ryby z kádí navraceny zpět do sádky č. 11. Úhyn ryb nebyl po experimentu pozorován. Dne 7. dubna 2020 byly ryby ze sádky vyloveny a byla na nich provedena pitva. Žádné anatomicko–patologické změny na rybách nebyly zjištěny.



Obr. 7 Celkový pohled na umístění kádí při experimentech dne 31. 3. 2020 (experiment 2 až 4). Zleva 3x kádě varianty **k**, uprostřed 3x kádě s vložkou varianty **v** a zcela vpravo 3x kádě s vložkou varianty **o** (foto J. Regenda).

Experiment č. 3

Třetí experiment byl proveden rovněž 31. března 2020 na sádkách v Táboře. Do experimentu byl použit dvouletý kapr šupinatý o průměrné hmotnosti 0,50 kg, slovený dne 24.3. 2020 v rybníku Přivázal, který byl následně umístěn do sádky č. 9. Jako zdroje vzduchu



byl využit centrální rozvod vzduchu po sádkách. Ten je napájen dmychadlem Dutair-DB-415, 257 m³/h, 1 500 W.

Experiment byl založen ve třech opakováních v každé variantě. Do jedné kádě bylo umístěno vždy 60 kg ryb (biomasa 109 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 12:10–12:15 a ukončena po 45 minutách (13:00) s ohledem na nedostatek kyslíku v kádích (očekávaný stav). Varianta **v** byla nasazena v 12:20–12:25 a varianta **o** v 13:05–13:10 (dávkování O₂ nastaveno na 0,2–0,3 l.min⁻¹). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách (dle plánu) tedy v čase 13:25 a 14:10.

Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut, resp. u varianty **k**, byl odebrán posední vzorek po 15 minutách (ukončení varianty v 45'). Po experimentu byly ryby z kádí umístěny do sádky č. 2. Úhyn ryb nebyl po experimentu pozorován. Dne 7. dubna 2020 byly ryby ze sádky vyloveny a byla na nich provedena pitva. Žádné anatomicko–patologické změny na rybách nebyly zjištěny.

Experiment č. 4

Čtvrtý experiment byl proveden také 31. března 2020 na sádkách v Táboře. Do experimentu byl použité tržní štiky o průměrné hmotnosti 1,43 kg. S ohledem na status štiky v rybniční akvakultuře a jejich nízkých počtech v obsádkách, byl původ štik různorodý (včetně nákupu z externích zdrojů) a vykazovali určitou velikostní heterogenitu (tab. 1). Pro experiment byly využity veškeré tržní štiky dostupné na sádkách v danou chvíli (celkem 150 kg). S ohledem na průběh výtěrové sezóny to bylo méně, než jsme původně uvažovali. Jako zdroje vzduchu byl využit opět centrální rozvod vzduchu na sádkách (Dutair-DB-415, 257 m³/h, 1 500 W).

S ohledem na relativní nedostatek štik, byl experiment proveden jen ve dvou opakování, přičemž do každé kádě bylo umístěno 25 kg ryb (biomasa 45,45 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 14:20–14:25 a ukončena po 60 minutách (15:25). Varianta **v** byla nasazena v 14:40–14:45 a varianta **o** v 15:10–15:15 (dávkování O₂ nastaveno na 0,1–0,2 l.min⁻¹). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách v čase 15:55 a 16:15.

Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut. Po experimentu byly ryby z kádí navraceny zpět do bazénů v líhni, haltířů a na prodejnu ryb. Úhyn ryb nebyl pozorován. Dne 7. dubna 2020 byly ryby ze sádky vyloveny a byla na nich provedena pitva. Žádné anatomicko–patologické změny na rybách nebyly zjištěny.

Tab. 1 Organizace experimentu č. 4 s tržní štikou (25 kg Š_t/káď), uskutečněného 31. 3. 2020

Parametr	Káď (k)			Aerační vložka (v)			Aerační vložka s oxygenací (o)		
	K1	K2	K3	V1	V2	V3	O1	O2	O3
Označení									
Počet ryb v kádi (ks)	20	20		18	17		13	19	
Počet ryb odebraných pro vzorky (ks)	4	3		4	3		4	3	
Průměrná kusová hmotnost ryb (kg)	1,25	1,25		1,39	1,47		1,92	1,32	



Experiment č. 5

Pátý experiment byl proveden dne 13. října 2020 na rybníku Stará Komora o výměře 6,1 ha (k.ú. Kolišov), viz. obr. 8. Do experimentu byl použit dvouletý kapr šupinatý o průměrné hmotnosti 0,51 kg. Jako zdroj vzduchu bylo využito dmychadlo Nitto Kohki co., LTD. – Medo Blower: LA 100A (A1162-P1-1412), 100 W, 120 l/min., které bylo poháněno benzínovým agregátem.

Experiment byl založen ve třech opakováních v každé variantě (obr. 9). Bližší charakteristika jednotlivých variant a opakování je uvedena v tab.2. Do jedné kádě bylo umístěno vždy 100 kg ryb (biomasa 181,8 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 8:25–8:30 a ukončena po 45 minutách (9:15) s ohledem na nedostatek kyslíku v kádích (očekávaný stav). Varianta **v** byla nasazena v



Obr. 8 Rybník Stará Komora, k.ú. Kolišov – 6,1 ha (foto J. Regenda).

9:30–9:35 a varianta **o** v 11:10–11:15 (dávkování O₂ nastaveno na začátku na **O1**–0,14; **O2**–0,09 a **O3**–0,04 Nm³.h⁻¹; později upraveno na **O1**–0,20; **O2**–0,08 a **O3**–0,08 Nm³.h⁻¹, průběžná vizuální kontrola a sjednocení intenzity oxygenace v kádi). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách (dle plánu) tedy v čase 10:30 a 12:15.

Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Nicméně po ukončení experimentu zůstali ryby z provozních důvodů (čekání na auto) ve variantě **v** a **o** v kádích i nadále. Proto bylo této příležitosti využito a sledovali jsme základní fyzikálně chemické parametry kvality vody v kádích i nadále v intervalu 15 minut až do 120' u varianty **v**, resp. 90' u varianty **o**. Vedle toho byla po celou dobu experimentu průběžně měřena kvalita vody v lovišti a v síti s rybami. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut, resp. u varianty **k**, byl odebrán poslední vzorek po 15 minutách (ukončení varianty v 45'). Po experimentu byly ryby převezeny na sádky a umístěny do sádek, samostatně dle variant (viz. tab. 2). Po realizaci experimentu byl zpozorován úhyn pouze 2 ryb v sádce č. 4 (varianta **o**) – mechanické poškození. Dne 20. října 2020 byly ryby ze sádky vyloveny a byla na nich provedena pitva. Žádné anatomicko–patologické změny na rybách nebyly zjištěny.



Při experimentu byla měřena rovněž spotřeba kyslíku, a to vážením kyslíkové lahve před zahájením experiment (11:10 – 39,05 kg) a po jeho ukončení (13:10 – 37,25 kg). Vážení probíhalo na váze CAS PB 100/200 kg. V průběhu experimentu č. 5 bylo tedy spotřebováno 1,8 kg kyslíku za dvě hodiny pro tři kádě (0,3 kg/hod./kád').

Tab. 2 Organizace experimentu č. 5 s násadou kapra (100 kg K₂/kád'), uskutečněného 13.10.2020.

Parametr	Kád' (k)			Aerační vložka (v)			Aerační vložka s oxygenací (o)		
Označení	K1	K2	K3	V1	V2	V3	O1	O2	O3
Počet ryb v kádi (ks)	206	209	205	191	185	186	204	192	194
Počet ryb odebraných pro vzorky (ks)	2	3	2	3	2	2	3	2	2
Průměrná kusová hmotnost ryb (kg)	0,49	0,48	0,49	0,52	0,54	0,54	0,49	0,52	0,52
Umístění ryb po experimentu	sádka č. 2			sádka č. 3			sádka č. 4		
Úhyn ryb po experimentu (ks/ %)	0 / 0,000			0 / 0,000			2 / 0,343		



Obr. 9 Celkový pohled na umístění kádí na rybníku Stará Komora při experimentu č. 5 dne 13. 10. 2020 (foto J. Regenda).

Experiment č. 6

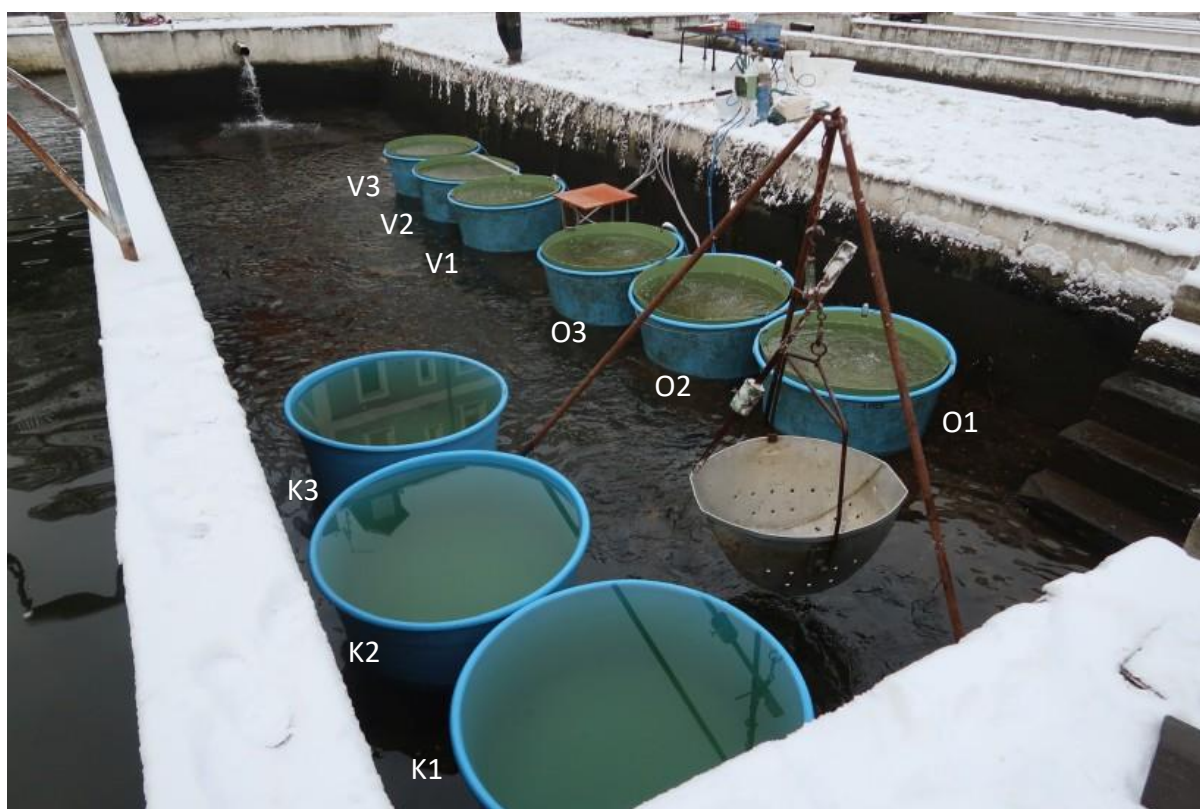
Šestý experiment byl proveden 3. prosince 2020 opět na sádkách v Táboře. Do experimentu byl použit čtyřletý kapr šupinatý o průměrné hmotnosti 2,32 kg, slovený dne 5. 11. 2020 v rybníku Velký Borovanský, který byl následně umístěn do sádky č. 9. Jako zdroj vzduchu bylo použito dmychadlo Nitto Kohki co., LTD. – Medo Blower: LA 100A (A1162-P1-1412), 100 W, 120 l/min.



Experiment byl založen ve třech opakováních v každé variantě (obr. 10). Bližší charakteristik jednotlivých variant a opakování je uvedena v tabulce 3. Do jedné kádě bylo umístěno vždy 100 kg ryb (biomasa 181,8 kg.m³). Varianta **k** byla nasazena v 8:40–8:45 a ukončena po 60 minutách (bylo to možné díky nízké teplotě vody). Varianta **v** byla nasazena v 9:20–9:25 a varianta **o** v 11:40–11:45 (dávkování O₂ nastaveno začátku na **O1**–0,13; **O2**–0,015 a **O3**–0,32 Nm³.h⁻¹, průběžná vizuální kontrola a sjednocení intenzity oxygenace v kádi). Obě tyto varianty byly ukončeny po 60 minutách (dle plánu) tedy v čase 10:25 a 12:45.

Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody (teplota, SPC, kyslík, pH, ORP, TDS, Turbidita) probíhalo těsně před zahájením experimentu a následně v intervalu 15 minut. Odběr vzorků vody pro laboratorní analýzy (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺) proběhnul těsně před zahájením experimentu a poté v intervalu 30 minut. Po experimentu byly ryby převezeny na sádky a umístěny do sádek, samostatně dle variant (viz. tab. 2). Po realizaci experimentu nebyl zpozorován úhyn ryb. Dne 10. prosince 2020 byly ryby ze sádky vyloveny a byla na nich provedena pitva. Žádné anatomicko–patologické změny na rybách nebyly zjištěny.

Při experimentu byla měřena rovněž spotřeba kyslíku, a to vážením kyslíkové lahve před zahájením experimentu (11:30 – 43,45 kg, 89 Bar) a po jeho ukončení (12:45 – 40,50 kg, 44 Bar). Vážení probíhalo na můstkové váze Lesak 1T4560-LN 30 MR. V průběhu experimentu č. 6 bylo tedy spotřebováno 2,95 kg kyslíku za cca 70 minut (0,84 kg/hod./kád').



Obr. 10 Celkový pohled na umístění kádí na sádkách v Táboře při experimentu č. 6 dne 3. 12. 2020 (foto J. Regenda).



Tab. 3 Organizace experimentu č. 6 s tržním kaprem (100 kg K_t/kád'), uskutečněného 3.12.2020.

Parametr	Kád' (k)			Aerační vložka (v)			Aerační vložka s oxygenací (o)		
Označení	K1	K2	K3	V1	V2	V3	O1	O2	O3
Počet ryb v kádi (ks)	45	45	46	47	45	44	40	39	39
Počet ryb odebraných pro vzorky (ks)	3	2	2	3	2	2	3	2	2
Průměrná kusová hmotnost ryb (kg)	2,22	2,22	2,17	2,12	2,22	2,27	2,50	2,56	2,56
Umístění ryb po experimentu	sádka č. 14			sádka č. 8			sádka č. 3		
Úhyn ryb po experimentu (ks/ %)	0 / 0,000			0 / 0,000			0 / 0,000		

Přehledné vzájemné srovnání založení jednotlivých experimentů uvádí tabulka 4.

Tab. 4 Porovnání dizajnu všech experimentů uskutečněných v rámci projektu.

Parametr	Experiment č. 1	Experiment č. 2	Experiment č. 3	Experiment č. 4	Experiment č. 5	Experiment č. 6
Druh a kategorie ryb	kapr tržní	kapr tržní	kapr násada	štika tržní	kapr násada	kapr tržní
Místo experimentu	sádky Tábor	sádky Tábor	sádky Tábor	sádky Tábor	rybník Stará Komora	sádky Tábor
Datum experimentu	28.11.2019	31.3.2020	31.3.2020	31.3.2020	13.10.2020	2.12.2020
Hmotnost ryb v kádi (kg)	200	60	60	25	100	100
Biomasa ryb (kg/m ³)	363,34	109	109	45,45	181,8	181,8
Kusová hmotnost ryb (kg)	2,1	2,14	0,50	1,43	0,51	2,32
Počet opakování ve variantě	3	3	3	2	3	3

3.3 Měření základních fyzikálně-chemických parametrů vody

Měření kvality vody v průběhu celého projektu bylo prováděno u základních fyzikálně chemických vlastností vody pomocí multiparametrální sondy YSI EXO 2 (viz. obr. 11), která byla osazena těmito senzory:

1. EXO Conductivity/Temperature Sensor, Ti

Teplota vody (°C), **Vodivost** – konduktivita (μS.cm⁻¹) je uváděná pro lepší srovnání jako specifická vodivost – **SPC**, tedy hodnota přepočtena na teplotu vody 25 °C, **Celkové rozpuštěné pevné látky** (Total dissolved solids) – TDS (mg.l⁻¹), **Salinita** (ppt.) stanovena výpočtem dle algoritmu z vodivosti a teploty vody (při experimentu nevyužito),

2. EXO Optical DO Sensor, Ti

množství rozpuštěného kyslíku (mg.l⁻¹), **nasycení vody kyslíkem** (%),

3. EXO ISE06 pH/ORP Sensor Assembly, Unguarded, Ti

pH, **Oxido-redukční potenciál** – ORP (mV),

4. EXO Total Algae - PC Sensor, Ti

Chlorofyl *a* – Chlor. *a* (μg.l⁻¹), **Modro zelené řasy (sinice)** (Blue-green Algae) BGA-PC (μg.l⁻¹)

Data z tohoto senzoru nebyla s ohledem na povahu měření využívání.



5. EXO Turbidity Smart Sensor

Zákal vody (NTU)

U všech experimentů byla prováděna měření kvality vody v kádích v intervalu 15 minut (0', 15', 30', 45', 60'). U experimentu č. 5 bylo u varianty „v“ a „o“ prodlouženo měření až do času 120', resp. 90'. Zároveň byla průběžně měřena kvalita vody v lovišti rybníka a v síti s rybami. U experimentu č. 6 byla obdobně měřena kvalita vody v sádce s rybami.

Měření byla prováděna vložením senzorů do vody v kádi (síti, lovišti, sádce) mimo hlavní proud plynů za pomalého pohybování až do ustálení měřených hodnot.



Obr. 11 Multiparametrální sonda YSI EXO2 (foto J. Regenda).

3.4 Laboratorní měření kvality vody

Vzorky vody pro laboratorní analýzy N-NO_2^- , N-NO_3^- , N-NH_4^+ , byly odebírány těsně před nasazením ryb do experimentu a poté v intervalu 30 minut (0', 30', 60'), resp. 45' u varianty „k“ při ukončení (experiment č. 2 až 5).

K odběru vzorků vody pro analýzy se používala kuchyňská odměrka o velikosti 1 l. Směsný vzorek vody se skládal ze 3–5x provedených dílčích odběrů z různých míst prostoru kádě. Tyto dílčí vzorky se umístili společně do větší nádoby (kýble) o objemu 15 l. Po zamíchání dílčích vzorků bylo přistoupeno k odběru vlastního vzorku vody. Voda byla v kýbly zamíchána prolitím odměrkou. Samotný vzorek pro analýzy se odebíral do plastové stříkačky o objemu 60 ml, která byla stejnou vodou předem propláchnuta. Voda byla předupravena filtrováním přes jednorázový membránový filtr (velikost pórů $0,45 \mu\text{m}$) a umístěna do PE vzorkovnice o objemu 30 ml (plněné po okraj bez vzduchové bubliny). Vzorky byly uchovávány v temnu při teplotě (1–5 °C). Analyzovány byly do 24 hodin od odběru.



Všechny vzorky vody byly laboratorně zpracovány ve Vodohospodářské laboratoři České Budějovice – Povodí Vltavy, s.p., Emila Pittera 1, 370 01 České Budějovice, akreditovaná ČIA dle ČSN EN ISO/IEC 17025:2018.

Při stanovení dusičnanů se postupovalo dle ČSN EN ISO 10304-1:2009 (75 7391) – Stanovení rozpuštěných aniontů metodou kapalinové chromatografie iontů – Část 1: Stanovení bromidů, chloridů, fluoridů, dusičnanů, dusitanů, fosforečnanů a síranů. Přepočít na dusičnanový dusík byl proveden dle tabulky 5. kap. 10 v ČSN EN ISO 10304 -1:2009

Amonné ionty se stanovovaly dle ČSN ISO 7150-1:1994 (757451) – Jakost vod – stanovení amonných iontů část 1: Manuální spektrometrická metoda, Přepočít $N-NH_4^+$ na NH_4^+ dle ČSN ISO 7150 – 1 kap. 8.1 Tabulka 2.

Dusitanový dusík analyzován dle ČSN EN 26777: 1995 (757452) Jakost vod. Stanovení dusitanů. Molekulární absorpční spektrofotometrická metoda. Přepočít $N-NO_2$ na NO_2 dle ČSN EN 26777 kap. 8.1 Tabulka 2.



Obr. 12 Odběr a základní zpracování vzorků krve ryb (foto J. Regenda a J. Příborský).

3.5 Odběr krve a hematologické vyšetření ryb

Vyšetření hematologického a biochemického profilu krve ryb bylo provedeno na začátku experimentu pro všechny varianty společně (7 ks ryb, před nasazením první varianty) a na konci testu každé varianty (7 ks ryb z každé varianty). Rybám byla odebrána krev z *vena caudalis* pomocí heparinizované injekční jehly (obr. 12). Ke stabilizaci byl použit vodný roztok sodné soli heparinu (Heparin inj., Léčiva, Česká republika) v dávce 0,01 ml na 1 ml krve. Na místě byly změřeny hematologické parametry: pH krve, pCO_2 , HCO_3 , AnGAP, tCO_2 , pO_2 , tHb, sO_2 , $F02H$, Na^+ , K^+ , Cl^- pomocí analyzátoru VetStat (IDEXX Laboratories Inc. U.S.A.). $F02H$ – dopočítávaný parametr, nezměřen z důvodu nízké venkovní teploty. Biochemické parametry



glukóza a laktát v plazmě byly stanoveny následně v laboratoři pomocí analyzátoru CatalysOne (IDEXX Laboratories Inc. U.S.A.). Kortizol byl analyzován v krevní plazmě pomocí RIA metody za použití komerčních kitů (kortizol-3-OCMO antisérum; Immunotech, Praha, Česká republika). Krevní plazma byla získána odstředěním odebrané krve v chlazené odstředivce (4 °C, 837 x g).

3.6 Odběr a analýza tkání

Po odběru krve byly rybám odebrány tkáně (žábry, mozek, svalovina) pro stanovení oxidativního stresu (reaktivní formy kyslíku – ROS, lipidní peroxidace – TBARS) a antioxidačních biomarkerů (kataláza – CAT, superoxid dismutáza – SOD, glutathion reduktáza – GR, glutathion – GSH, glutathion S-transferáza – GST). Po odběru dané tkáně byl vzorek umístěn do chladicího boxu s ledem v označené mikrozkušavce Eppendorf. Bezprostředně po návratu z terénu byly vzorky tkání hluboce zamrazeny v tekutém dusíku a poté přemístěn do hlubokomrazicího boxu (-85 °C), kde byl uchován do biochemických analýz. Stanovení těchto biomarkerů proběhlo následně v laboratoři podle níže uvedených metodik. Vzorky ryb byly homogenizovány a



Obr. 13 Odběr a uskladnění tkání ryb pro další analýzy (foto J. Regenda a J. Příborský)

připraveny pro hodnocení parametrů oxidativního stresu a antioxidačních enzymů podle metodiky Stará a kol. (2016). Hladina lipidní peroxidace byla stanovena pomocí tzv. TBARS testu metodou Uchiama a Mihara (1978). ROS byly stanoveny podle metodiky Zhang a kol. (2008). Pro získání postmitochondriálního supernatantu na měření antioxidačních biomarkerů



byl homogenát centrifugován při 30 000 rpm (4 °C) po dobu 30 minut pro analýzu celkové superoxid dismutázy (SOD) a katalázy (CAT). Pro zbylé antioxidační parametry byl vzorek odstředěn při 10 000 rpm (4 °C) po dobu 15 minut. Celková aktivita SOD byla stanovena metodou podle Ewinga a Janera (1995). Test aktivity CAT byl stanoven dle metodiky Aebi (1984). Aktivita glutathion S-transferázy (GST) byla měřena podle Habig a kol. (1974). Vliv chloridazonu a jeho metabolitu chloridazonu desphenylu na pokles hladiny glutathionu (GSH) byl zjišťován pomocí metod Ellmanna (1959). Aktivitu GR byla stanovena podle metodiky Carlberg a Mannervik (1975). Stanovení koncentrace proteinů bylo provedeno podle Bradforda (1976) s použitím bovinního albuminu jako standardu pro kalibraci proteinu.

3.7 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení

Veškeré výsledky týkající se kvality vody, analýz krve a analýz tkání při testování fungování aeračních vložek jsou prezentovány v tabulkách jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka, případně v grafech. Výsledky kvality vody jsou reprezentovány třemi opakováními měření a výsledky analýzy tkání a krve sedmi opakováními měření dané varianty. Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno v programu Statistica 12 (StatSoft Inc., USA). Datové sady jednotlivých parametrů kvality vody a analýzy krve a tkání splňují podmínky normálního rozdělení (ověřené testem) a proto byla pro testování hypotéz o shodě středních hodnot jednotlivých skupin dat použita analýza rozptylu – ANOVA a pro následnou post-hoc analýzu Fisherův LSD test. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. U hodnot kvality vody byly pro varianty s průkazně odlišnou hodnotou použity horní indexy a, b, c. Pro parametry analýzy krve a tkání jsou uváděny u hodnot horní indexy: s – start, k – kádě (kontrola), v – aerační vložka se vzduchováním, o – aerační vložka s oxygenací, které označují statisticky průkaznou odlišnost dané varianty vůči variantě reprezentované daným indexem.



4 Výsledky

4.1 První experiment 28. 11. 2019 – tržní kapr

Experiment proběhl na sádkách v Táboře na tržním kapru ($K_4 - 2,1 \text{ kg.ks}^{-1}$). Cílem experimentu bylo ověřit si funkčnost technologie a metodiku vzorkování. U tohoto prvního experimentu nebyla z ekonomických důvodů prováděna analýza krve a tkání. Do rybářské kádě bylo nasazeno 200 kg ryb ($363,34 \text{ kg.m}^{-3}$).

4.1.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 1 je uvedena v grafu 1. V průběhu experimentu docházelo k mírnému zvyšování teploty vody v kádích, z $6,51\text{--}6,64$ na $6,85$ a $7,04$ °C (varianty **v** a **o**). Teplota vody je ovlivňována primárně aktuální teplotou vzduchu, která se mění v průběhu dne. Dopolodní pokles při vyjasnění postupně přechází kolem poledne v mírné zvyšování. Druhým výrazným faktorem je vzduchování, které žene do vody mírně ohřátý vzduch (kompresorem), jenž nepatrně zvyšuje teplotu vody. Varianty zahájené později, tedy při vyšší teplotě vzduchu, resp. s déle trvajícím vzduchováním, vykazovali vyšší teplotu vody (varianta **o**).

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení z $434,13$ na $448,40 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **o**, kde se SPC zvýšila z $443,83$ na $460,70 \mu\text{S.cm}^{-1}$, což bylo ve druhé polovině experimentu průkazně více, než u varianty **v** (z $440,87$ na $453,60 \mu\text{S.cm}^{-1}$).

Hodnota pH vody v průběhu experimentu mírně klesala u všech variant, resp. u varianty **k** se při ukončení experimentu mezi 15' a 30' poněkud zvýšila. Malé, ale předci jen rozdílné hodnoty pH na začátku experimentu (**o**–7,15; **k**–7,25; **v**–7,30) je možné vysvětlit odlišným časem jejich zahájení (vliv fotosyntézy řas v rybníční vodě) a různou délkou vzduchování vody před začátkem experimentu dané varianty. Na začátku experimentu, za prvních 15' klesalo pH výrazněji (na 6,91 až 6,98), později se intenzita poklesu pH zpomalila. Za hlavní faktor této dynamické změny pH pozorované u všech variant je možné označit biomasu ryb. Tyto změny je možné vysvětlovat dýcháním ryb, které v lepších podmínkách (více kyslíku) zpomalovali svůj metabolismus méně, a vylučovali více CO_2 do okolního prostředí. Z tohoto důvodu byla hodnota pH na konci experimentu u varianty **o** (6,80), průkazně nižší ve srovnání s variantou **v** (6,94).

Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni 212,9 mV (**v**), 217,9 mV (**k**) a průkazně vyšší u varianty **o** 233,6 mV. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo k výraznému poklesu hodnoty ORP u všech variant (**v**–170,2 mV; **o**–178,4 mV; **k**–185,9 mV). Tyto rozdíly mezi variantami byly statisticky rozdílné. V polovině experimentu (30') průkazně poklesla hodnota ORP u varianty **k** na 172,8 mV, zatímco u varianty **o**, nedošlo ke změně (178,4 mV) a varianta **b** se mírně zvýšila (177,3 mV). V druhé polovině experimentu došlo naopak u variant **v** a **o** k mírnému zvýšení hodnoty ORP, přičemž rozdíl mezi nimi se stal opět statisticky významný.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg.l^{-1}) bylo na začátku experimentu obdobné u všech variant (**k**–7,21 mg.l^{-1} ; **v**–7,60 mg.l^{-1} ; **o**–7,90 mg.l^{-1}), přičemž nepatrné, statisticky neprůkazné rozdíly je možné vysvětlit odlišným časem zahájení (fotosyntetická aktivita řas v rybníční vodě, resp. vzduchováním). Oxygenace vody (dávka $0,6 \text{ l O}_2.\text{min}^{-1}$) u varianty **o** byla



zahájena až těsně před vysazením ryb, takže se její vliv na množství kyslíku ve vodě v čase 0' neprojevil. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo díky vysoké biomase ryb ($363,34 \text{ kg.m}^{-3}$) k výraznému poklesu množství kyslíku ve vodě na $0,89 \text{ mg.l}^{-1}$ u varianty **k**, resp. $1,25 \text{ mg.l}^{-1}$ u varianty **v**. Průkazně vyšší úroveň O_2 byla dle předpokladu udržena ve variantě **o** ($4,11 \text{ mg.l}^{-1}$). V polovině experimentu (30') došlo k nepatrnému zvýšení množství kyslíku ve vodě u varianty **k** a **v** ($1,06$; resp. $1,78 \text{ mg.l}^{-1}$). Naproti tomu u varianty **o** došlo k dalšími snížení množství O_2 na $3,58 \text{ mg.l}^{-1}$. Nicméně rozdíl mezi variantami **k** a **v**, proti variantě **o**, byl statisticky průkazný. V druhé polovině experimentu (po ukončení varianty **k**) se průkazný rozdíl mezi variantami **v** a **o** udržel. Množství O_2 ve vodě se již výrazně neměnilo, i když v závěru experimentu došlo k jeho mírnému zvýšení. Obdobné trendy jsou patrné rovněž z nasycení kyslíku ve vodě (%).

Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazovala u všech variant v průběhu experimentu klesající tendenci. Na začátku experimentu dosahovala hodnot $10,89$ až $11,99$ NTU. Na konci experimentu po 60 minutách již činili hodnoty $4,77$ NTU (**v**), resp. $4,93$ NTU (**o**). Z dat je patrný výraznější pokles turbidity u variant s vložkami (**v** a **o**) ve srovnání se standardní rybářskou kádí (**k**). Vysvětlení tohoto trendu je možné hledat ve dvojitém dně a specifickém proudění vody ve variantách **v** a **o**, které umožňuje v čase sedimentování nerozpuštěných látek v klidném prostoru mezi vložkou a dnem kádě. Mezi jednotlivými variantami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

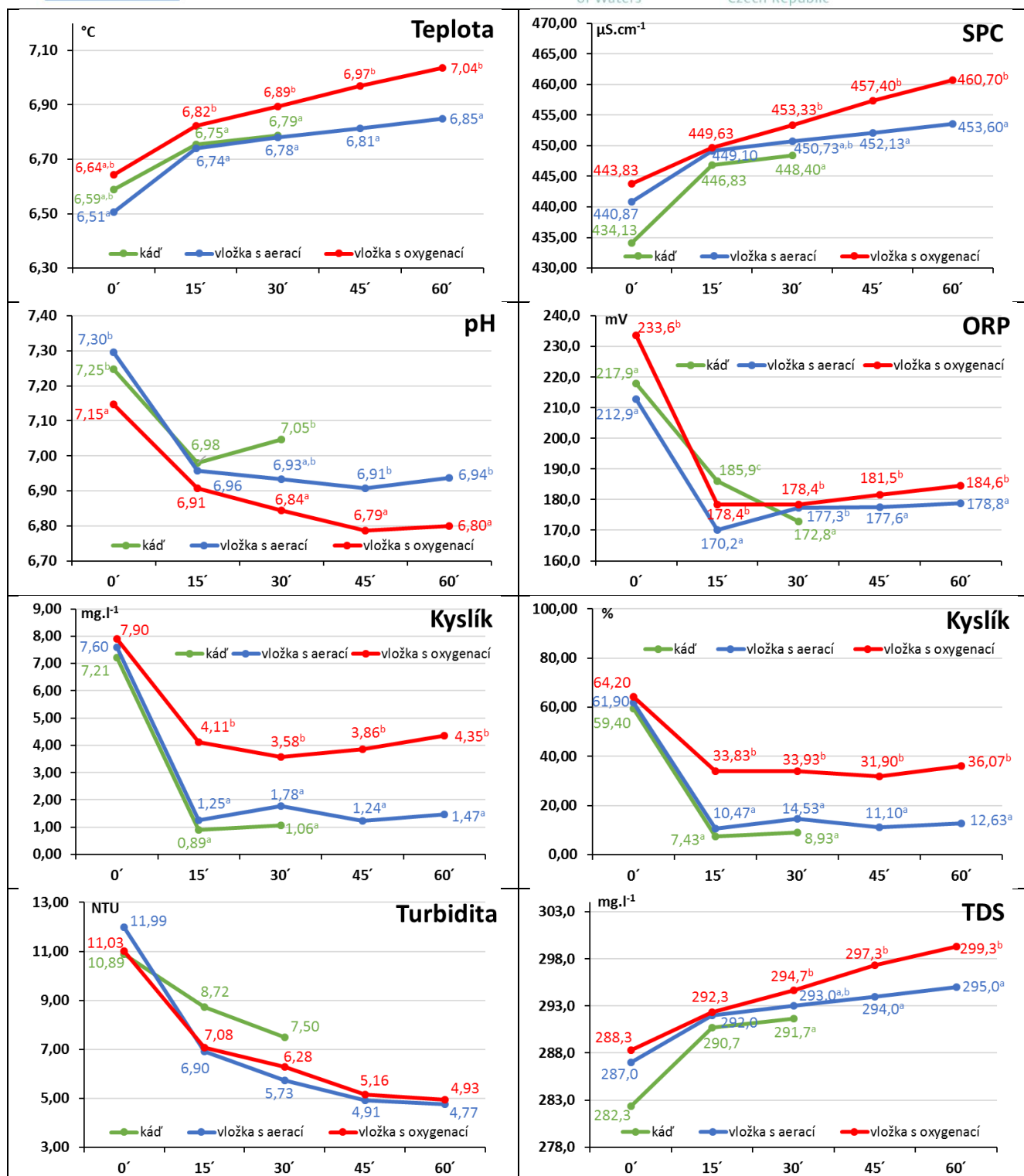
Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se na začátku experimentu pohybovala v rozsahu $282,3 \text{ mg.l}^{-1}$ (**k**) do $288,3 \text{ mg.l}^{-1}$ (**o**). Mezi jednotlivými variantami nebyl zjištěn statistický rozdíl. V průběhu experimentu docházelo k postupnému zvyšování hodnoty TDS. Průkazně vyšší hodnoty byly od poloviny sledování (30') u varianty **o**. V závěru experimentu dosahovala TDS $299,3 \text{ mg.l}^{-1}$ (**o**), zatímco varianta **v** měla jen $295,0 \text{ mg.l}^{-1}$.

4.1.2 Laboratorní analýza vody

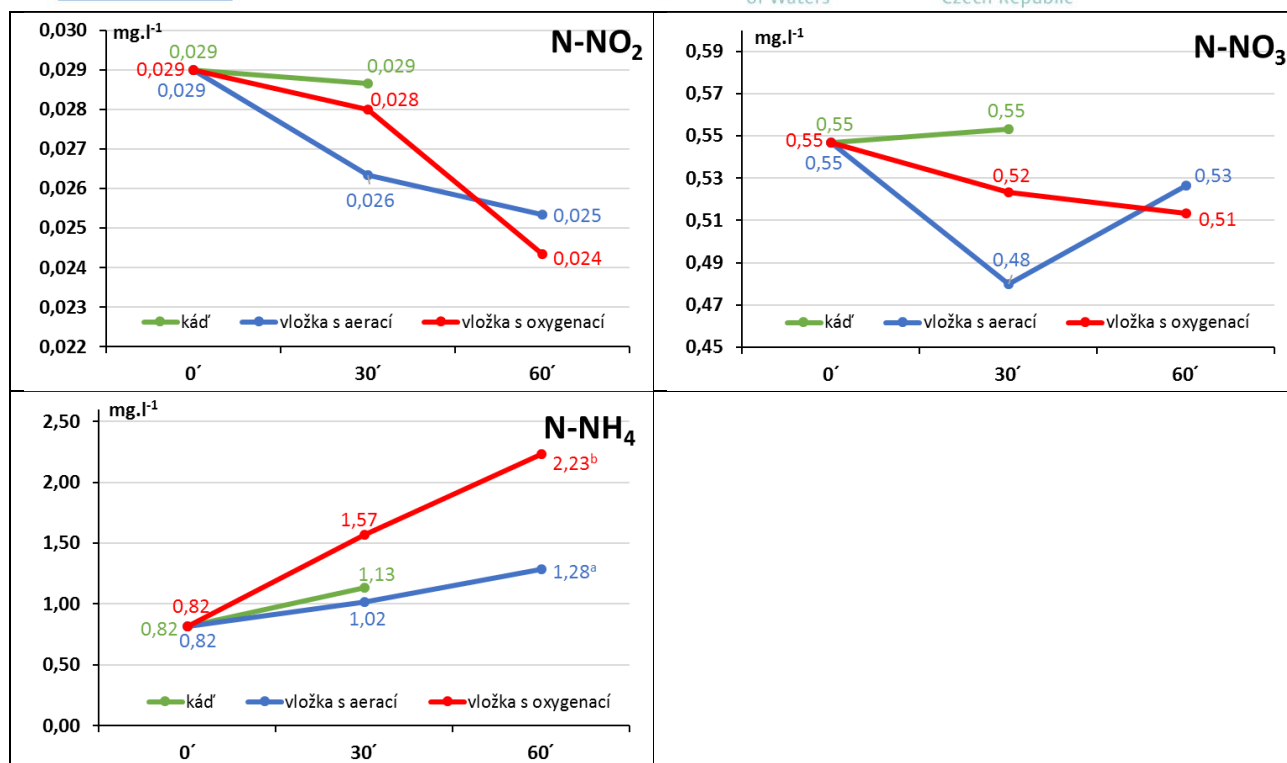
Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů N-NO_2 , N-NO_3 a N-NH_4 , jsou uvedeny v grafu 2. Koncentrace dusitanového dusíku byla na začátku experimentu stejná u všech variant a to $0,029 \text{ mg.l}^{-1}$. V průběhu experimentu (60') došlo u obou variant s aerační vložkou k jeho mírnému poklesu na $0,025 \text{ mg.l}^{-1}$ (**o**), resp. $0,025 \text{ mg.l}^{-1}$ (**v**). Mezi hodnotami nebyl zjištěn žádný statistický rozdíl.

Koncentrace dusičnanového dusíku byla u všech variant na začátku experimentu na stejné úrovni a to $0,55 \text{ mg.l}^{-1}$. V průběhu experimentu (60') došlo u obou variant s aerační vložkou k jeho mírnému poklesu na $0,51 \text{ mg.l}^{-1}$ (**o**), resp. $0,53 \text{ mg.l}^{-1}$ (**v**). Nejvýraznější pokles byl však zjištěn ve 30 minutě sledování u varianty **v** ($0,48 \text{ mg.l}^{-1}$), avšak mezi jednotlivými hodnotami nebyl zjištěn žádný statistický rozdíl.

Na začátku sledování dosahovala koncentrace amoniakálního dusíku úrovně $0,82 \text{ mg.l}^{-1}$ u všech variant. V průběhu experimentu došlo k postupnému zvýšení hodnoty N-NH_4 . Nejvyšší koncentrace ($2,23 \text{ mg.l}^{-1}$) byla zjištěna na konci experimentu u varianty **o**, zatímco statisticky průkazně nižší hodnota $1,28 \text{ mg.l}^{-1}$ byla naměřena u varianty **v**. Zvýšení koncentrace N-NH_4 v průběhu experimentu je možné vysvětlovat jejich exkrecí rybami. Lepší kyslíkové poměry ve variantě **o**, umožňovali rybám vyšší metabolickou aktivitu ve srovnání s variantou **v**, resp. **k**.



Graf 1: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 1, 28.11.2019 sádka Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).



Graf 2: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 1, 28. 11. 2019 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05)

4.1.3 Dílčí zhodnocení experimentu

Prvním experimentem se nám podařilo ověřit funkčnost všech technických prvků, jakož i prováděné metodiky, resp. dizajnu experimentu. Nicméně se ukázalo, že bude třeba využít vydatnější zdroj vzduchu. Použitá biomasa ryb (200 kg/kád') se jevila jako poměrně vysoká, neboť kontrolní varianta **k**, musela být ukončena již ve 30' z důvodu předejití udušení se ryb. Koncentrace kyslíku byla bez problémů udržována na vyšší úrovni u varianty **o**, zatímco využití vzduchování (varianta **v**) nepřineslo výrazně lepší zlepšení kyslíkových poměrů v kádích (vysoká biomasa ryb a relativně malý objem dodávaného vzduchu). V průběhu experimentu došlo k poklesu pH, OPR a překvapivě i turbidity. Naopak došlo ke zvýšení teploty vody, SPC a TDS. Dusitanová a dusičnanová forma dusíku v průběhu experimentu mírně klesla, zatímco hodnota amoniakálního dusíku se zvýšila (zejména ve variantě **o**).

4.2 Druhý experiment 31. 3. 2020 – tržní kapr

Experiment proběhl na sádkách v Táboře na tržním kapru ($K_4 = 2,14 \text{ kg.ks}^{-1}$). Cílem experimentu bylo potvrdit účinnost aerační vložky pro rybářskou kád' ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách. Do rybářské kádě bylo nasazeno 60 kg ryb (109 kg.m^{-3}), což je množství ryb odpovídající začátku výlovu. Jako zdroj vzduchu pro aerační vložky byl použit centrální rozvod vzduchu na sádkách (kompresor umístěn v kůlně, rozvod vzduchu kovovým potrubím). Od tohoto experimentu byly prováděny analýzy krve a tkání ryb.



4.2.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

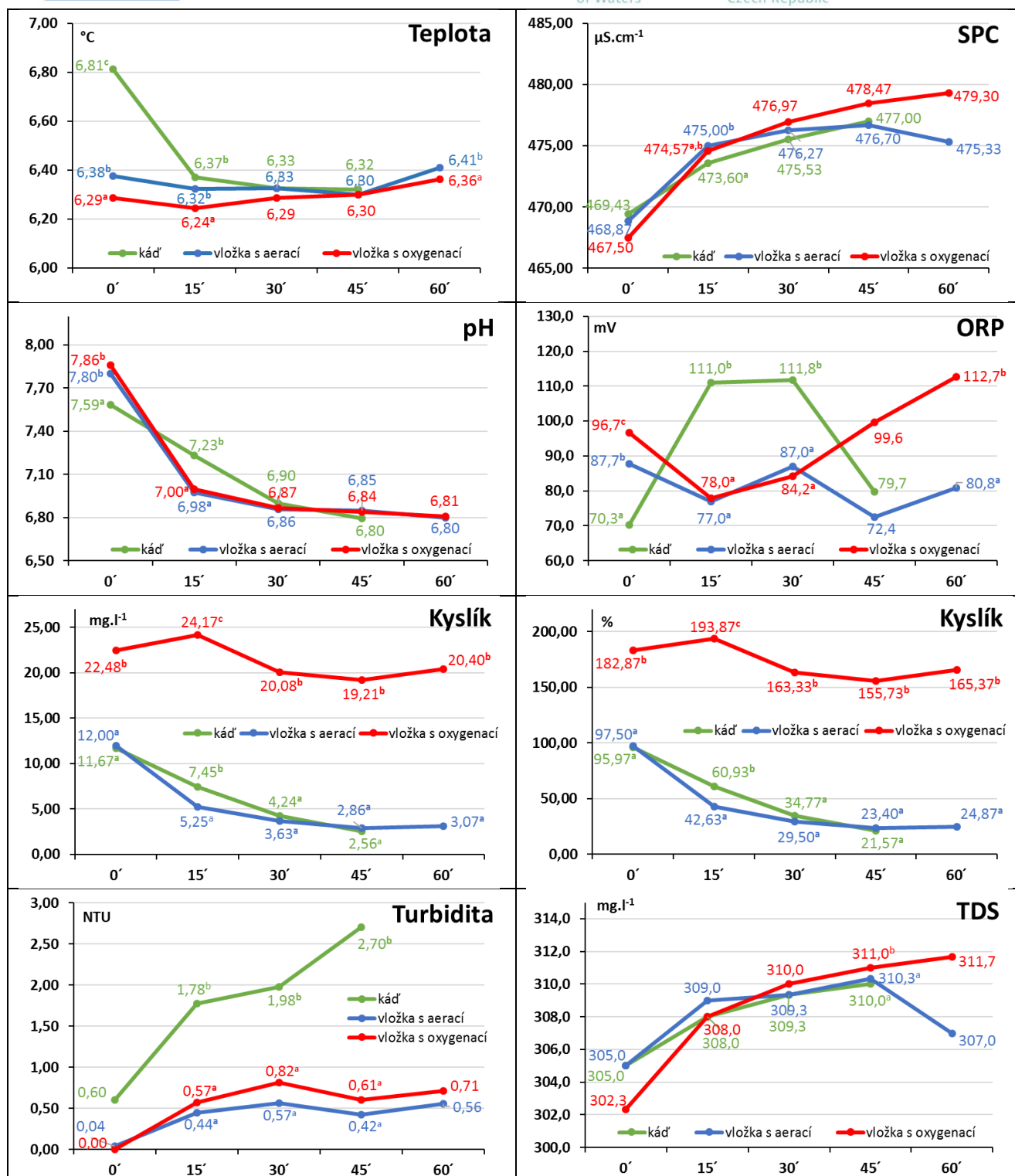
Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 2 je uvedena v grafu 3. V průběhu experimentu došlo k mírnému ochlazení vody u varianty **k** (z 6,81 na 6,32 °C) z důvodu ranního ochlazení vzduchu. U variant **v** a **o** došlo jen k velmi malým změnám teploty vody (začali jsme později, za ustálené, ale nižší teploty vzduchu). Stablní teplota vody u těchto variant byla rovněž ovlivněna vzduchováním. Na začátku experimentu byla proto teplota vody statisticky rozdílná u všech variant (**k**–6,81; **v**–6,38; **o**–6,29 °C). Nicméně tyto rozdíly nemohli mít fakticky fyziologický dopad na metabolismus ryb a průběh experimentu. Na konci experimentu (60') byla teplota vody mírně zvýšena proti začátku (0') u obou variant: **v** (6,41 °C) a **o** (6,36 °C), přičemž byl mezi nimi zjištěn statistický rozdíl.

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu v obecné rovině rostoucí trendy u všech variant (z 467,50–469,43 na **v**–475,33 a **o**–479,30 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$). V průběhu experimentu (od 15') byly zjištěny nižší hodnoty u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení z (0') 469,43 na 477,00 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (45'). Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **o**, kde se SPC zvýšila z (0') 467,50 na 479,30 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (60'). Statisticky průkazné rozdíly mezi variantami byly zjištěny pouze v 15 minutě experimentu.

Hodnota pH vody v průběhu experimentu mírně klesala u všech variant. Malé, ale předci jen statisticky významné rozdílné hodnoty pH na začátku experimentu (**o**–7,86; **v**–7,80; **k**–7,59) je možné vysvětlit odlišným časem jejich zahájení (vliv fotosyntézy řas v rybníční vodě) a různou délkou vzduchování vody před začátkem experimentu dané varianty. Na začátku experimentu, za prvních 15 minut klesalo pH výrazněji u obou variant s aerační vložkou (na 6,99 **v** a 7,00 **o**) ve srovnání s **k** (7,23). Další intenzita poklesu pH již byla pozvolnější. Dynamická změna pH pozorované u všech variant je způsobená dýcháním ryb (exkrece CO_2). Minimální rozdíly hodnoty pH mezi variantou **v** a **o** působila pravděpodobně nižší biomasa ryb ve srovnání s experimentem č. 1 (jen 109 $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ proti 363,34 $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$). Hodnota pH na konci experimentu byla u varianty **o** 6,81, zatímco u varianty **v** 6,80).

Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni 96,7 mV (**o**), 87,7 mV (**v**) a 70,3 mV (**k**). Mezi jednotlivými variantami byl v čase 0' zjištěn statisticky průkazný rozdíl. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo k poklesu hodnoty ORP u variant **v** a **o** (77,2 a 78,0 mV), zatímco u varianty **k** došlo k jeho zvýšení na 111,0 mV (průkazný rozdíl). Obdobné hodnoty byly zjištěny i v polovině experimentu (30'), přičemž došlo k mírnému zvýšení ORP u variant **v** a **o** (87,0 a 84,2 mV). Tyto rozdíly mezi variantami byly opět statisticky rozdílné. V druhé polovině experimentu (45') však došlo ke změnám ORP. U varianty **k** nastal pokles ORP na 79,7 mV, resp. u **v** až na 72,4 mV, zatímco u varianty **o** se naopak zvýšilo na 99,6 mV. Tyto rozdíly však nebyly statisticky průkazné. V závěru experimentu byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi variantou **v** – 80,8 mV a **o** – 112,7 mV.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) bylo na začátku experimentu obdobné u variant **k**–11,67 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a **v**–12,00 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Varianta **o** však vykazovala průkazně vyšší koncentraci kyslíku 22,48 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, z důvodu jeho aplikace do kádí, ještě před vysazením ryb (dávka 0,4–0,6 l $\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1}$) (očekávaný postup v rybářském provozu při třídění nebo lovení ryb). Již po prvních 15 minutách experimentu došlo u varianty **v** a **k** k poklesu koncentrace O_2 na 5,25 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a 7,45 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Naproti tomu u varianty **o** došlo ke zvýšení hladiny kyslíku na 24,17 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Proto došlo k mírnému omezení dávkování O_2 do kádí této varianty. V polovině experimentu č. 2 byl zjištěn pokračující mírný pokles koncentrace kyslíku u variant **v** a **k** na 3,63 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a 4,24 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Úbytek množství kyslíku byl zjištěn i u varianty **o** (20,08 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Ve 45 minutě experimentu byl zjištěn další pokles koncentrace kyslíku, přičemž došlo k ukončení varianty **k**. Na závěr experimentu



Graf 3: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).

byl zjištěn průkazných rozdíl mezi variantou v (3,07 mg.l⁻¹) a o (20,40 mg.l⁻¹). Obdobné trendy jsou patrné rovněž z nasycení kyslíku ve vodě (%).

Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazoval u všech variant v průběhu experimentu rostoucí tendenci. Na začátku experimentu dosahoval zákal hodnot 0,00 až 0,60 NTU. Na konci

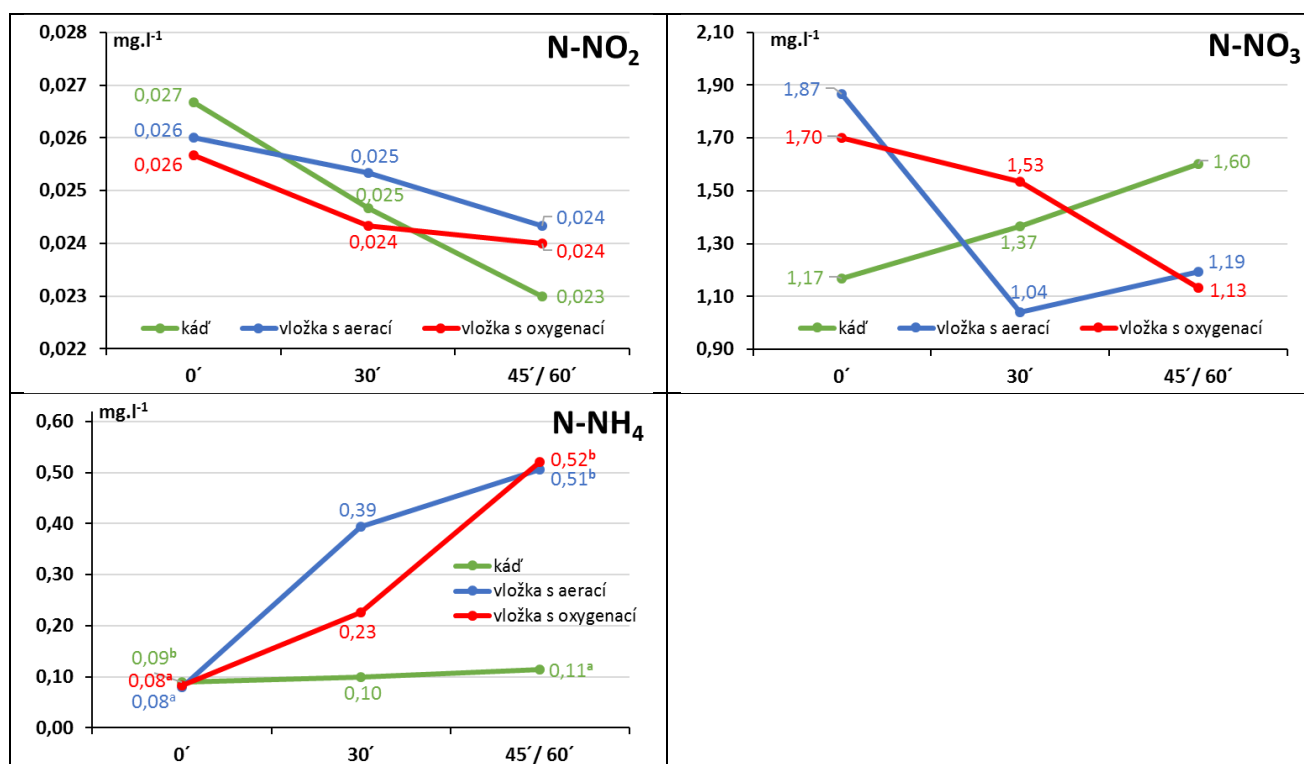


experimentu po 45, resp. 60 minutách již činili hodnoty 2,70 NTU (**k**), resp. 0,71 NTU (**o**) a 0,56 NTU (**v**). Toto mírné zvýšení všech hodno nastalo v důsledku „kontaminace“ čisté vody z kádí znečištěním doneseným společně s rybami. Z dat je však patrné průkazně nižší zvyšování zákalu variant s vložkami (**v** a **o**) ve srovnání se standardní rybářskou kádí (**k**). Důvodem je pravděpodobně dvojité dno a specifické proudění vody ve variantách **v** a **o**, které umožňuje v čase lepší sedimentování nerozpuštěných látek v klidném prostoru mezi vložkou a dnem kádě.

Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se na začátku experimentu pohybovala v rozsahu 302,3 mg.l⁻¹ (**o**) do 305,0 mg.l⁻¹ (**v**). mezi jednotlivými variantami nebyl zjištěn statistický rozdíl. V průběhu experimentu docházelo k postupnému zvyšování hodnoty TDS. Průkazně nižší hodnoty byly zjištěny ve 45 minutě sledování u variant **v** a **k**. V závěru experimentu dosahovalo TDS 311,7 mg.l⁻¹ (**o**), zatímco varianta **v** měla jen 307,0 mg.l⁻¹ (bez průkazného rozdílu).

4.2.2 Laboratorní analýza vody

Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů N-NO₂, N-NO₃ a N-NH₄, jsou uvedeny v grafu 4. Koncentrace dusitanového dusíku se na začátku experimentu pohybovala v intervalu 0,026–0,027 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu (60') došlo u obou variant s aerační vložkou k jeho mírnému poklesu na 0,024 mg.l⁻¹ (**o**), resp. u varianty **k** byl ve 45 minutě (její ukončení) zjištěn pokles o něco výraznější – 0,023 mg.l⁻¹ (**k**). Mezi hodnotami však nebyl zjištěn žádný statistický rozdíl.



Graf 4: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).



Koncentrace dusičnanového dusíku byla na začátku experimentu poněkud rozdílná. Nejnižší hodnota byla zjištěna u varianty **k** ($1,17 \text{ mg.l}^{-1}$), zatímco varianty **o**, resp. **v** vykazovali vyšší koncentrace ($1,70$, resp. $1,87 \text{ mg.l}^{-1}$). V průběhu experimentu však množství N-NO_3 ve variantě **k** vzrostlo na $1,60 \text{ mg.l}^{-1}$ ($45'$), zatímco u variant s aerační vložkou naopak kleslo (**o**– $1,13$ a **v**– $1,19 \text{ mg.l}^{-1}$). Mezi jednotlivými hodnotami však nebyl zjištěn žádný statistický rozdíl.

Na začátku sledování dosahoval koncentrace amoniakálního dusíku všech variant rozmezí $0,08$ – $0,09 \text{ mg.l}^{-1}$. V průběhu experimentu došlo k postupnému zvýšení hodnoty N-NH_4 . Nejvyšší koncentrace ($0,52$ a $0,51 \text{ mg.l}^{-1}$) byla zjištěna na konci experimentu u variant **o** a **v**, zatímco statisticky průkazná nižší hodnota $0,11 \text{ mg.l}^{-1}$ byla naměřena u varianty **k**. Zvýšení koncentrace N-NH_4 v průběhu experimentu je možné vysvětlovat jejich exkrecí rybami. Lepší kyslíkové poměry ve variantě **o** a **v** umožňovali rybám vyšší metabolickou aktivitu ve srovnání s variantou **k**.

4.2.3 Analýza krve

Výsledky analýzy krve ryb v rámci experimentu č. 2 jsou uvedeny v tabulce č. 5. U varianty **k** došlo vůči začátku experimentu (**s**) k průkaznému zvýšení GLU, LACT, AnGAP, tHb a průkaznému poklesu pH, HCO_3 , tCO_2 , pO_2 , sO_2 . Bez průkazné změny vůči **s** byly hodnoty pCO_2 , Na^+ , K^+ , Cl^- . Obdobné výsledky byly zjištěny u varianty **v**, kde došlo k průkaznému zvýšení (ve srovnání s **s**) GLU, LACT, AnGAP, naopak průkazný pokles byl zjištěn pro pH, HCO_3 , tCO_2 , sO_2 , K^+ . Bez změny vůči **s** zůstali u varianty **v**: pCO_2 , tHb, Na^+ , Cl^- . Ve variantě **o**, byl průkazný rozdíl vůči **s** zjištěn – pokles: HCO_3 , tCO_2 , K^+ , resp. zvýšení: pO_2 a sO_2 . Za důležité je možné označit, že u varianty **k**, resp. **v** došlo k poklesu pO_2 a sO_2 vůči **s** ($-73,45 \%$ a $-40,07 \%$), resp. **v** ($-45,31 \%$ a $-15,75 \%$) zatímco ve variantě **o** došlo naopak ke zvýšení těchto parametrů ($+17,96 \%$ a $+11,30 \%$). Tyto parametry byly průkazně odlišné i mezi sebou. Data z rozboru krve poukazují na stresovou reakci z důvodu nedostatku kyslíku u varianty **k** a **v**, zatímco u varianty **o** ryby reagovali na přesycení vody kyslíkem.

4.2.4 Analýza tkání

Výsledky analýzy tkání ryb v rámci experimentu č. 2 jsou uvedeny v tabulce č. 6. U varianty **k** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**) u žaberní tkáně: ROS, TBARS, SOD a CAT; u svaloviny: ROS a mozku: ROS, TBARS, SOD a GSH. Ostatní parametry byly na srovnatelné úrovni jako **s**. Ve variantě **v** došlo k průkaznému rozdílu (zvýšení) u žaberní tkáně: ROS a SOD; u svaloviny: ROS a mozkové tkáni: CAT. Ostatní parametry varianty **v** byly na srovnatelné úrovni jako **s**, resp. byl zjištěn pokles CAT v mozkové tkáni. U varianty **o** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**) takřka u všech sledovaných parametrů: žaberní tkáň – ROS, TBARS, SOD, CAT, GR; svalovina – ROS, TBARS, SOD; mozková tkáň – ROS, TBARS, SOD, resp. u GSH – svaloviny byl zjištěn průkazný pokles vůči **s**. Bez průkazného rozdílu byly zjištěny ve variantě **o**, vůči **s** zůstali jen tyto parametry: GSH a GST – žaberní tkáň; CAT, GR, GST – svalovina; CAT a GR – mozková tkáň. Průkazně vyšší byla většina sledovaných parametrů ve variantě **o** i vůči variantám **k** a **v**. Z těchto dat je možné vyvodit, že ve variantě **k** došlo díky nedostatku kyslíku k dušení ryb, jenž vyvolalo stresovou reakci. Její mírnější formu, díky vzduchování, je možné vidět ve výsledcích varianty **v**. Nicméně nejvyšší hodnoty oxidativního stresu byly naměřeny ve variantě **o**. Tato skutečnost byla dána přesycením vody kyslíkem (průměr v průběhu experimentu 156 – 193%).



Tab. 5: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>plazma</i>					
GLU	mmol/l	2,439 $\pm$ 0,348 ^{k,v}	3,426 $\pm$ 0,970 ^{s,v,o}	4,931 $\pm$ 1,120 ^{s,k,o}	2,420 $\pm$ 0,319 ^{k,v}
LACT	mmol/l	2,419 $\pm$ 0,400 ^{k,v}	16,954 $\pm$ 2,558 ^{s,v,o}	10,583 $\pm$ 1,255 ^{s,k,o}	2,874 $\pm$ 0,261 ^{k,v}
<i>krev</i>					
pH		7,463 $\pm$ 0,110 ^{k,v}	7,339 $\pm$ 0,079 ^s	7,271 $\pm$ 0,027 ^{o,s}	7,377 $\pm$ 0,045 ^v
pCO ₂	mmHg	28,000 $\pm$ 7,483	30,000 $\pm$ 5,928	27,571 $\pm$ 2,441	26,571 $\pm$ 1,761
HCO ₃	mmol/l	18,014 $\pm$ 2,577 ^{k,v,o}	14,814 $\pm$ 1,152 ^{s,v}	11,771 $\pm$ 1,272 ^{s,k,o}	14,471 $\pm$ 1,595 ^{s,v}
AnGAP	mmol/l	19,857 $\pm$ 3,918 ^{k,v}	23,671 $\pm$ 1,796 ^s	25,514 $\pm$ 2,865 ^{s,o}	21,814 $\pm$ 2,183 ^v
tCO ₂	mmol/l	18,857 $\pm$ 2,639 ^{k,v,o}	15,743 $\pm$ 1,185 ^{s,v}	12,586 $\pm$ 1,344 ^{s,k,o}	15,314 $\pm$ 1,619 ^{s,v}
pO ₂	mmHg	71,571 $\pm$ 19,033 ^{k,v}	19,000 $\pm$ 2,726 ^{s,v,o}	39,143 $\pm$ 3,523 ^{s,k,o}	84,429 $\pm$ 11,362 ^{k,v}
tHb	g/dl	9,471 $\pm$ 1,368 ^k	11,114 $\pm$ 1,677 ^{s,v,o}	9,086 $\pm$ 1,078 ^k	9,014 $\pm$ 1,185 ^k
sO ₂	%	83,429 $\pm$ 12,477 ^{k,v,o}	<60 ^{s,v,o}	70,286 $\pm$ 4,025 ^{s,k,o}	92,857 $\pm$ 4,823 ^{s,k,v}
Na ⁺	mmol/l	148,143 $\pm$ 3,356	149,000 $\pm$ 1,852	147,714 $\pm$ 5,496	147,000 $\pm$ 1,604
K ⁺	mmol/l	3,029 $\pm$ 0,667 ^{v,o}	3,114 $\pm$ 0,669 ^{v,o}	2,071 $\pm$ 0,266 ^{s,k}	1,993 $\pm$ 0,438 ^{s,k}
Cl ⁻	mmol/l	113,571 $\pm$ 1,498	113,429 $\pm$ 1,050	112,429 $\pm$ 4,135	112,857 $\pm$ 1,125

Poznámka: GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO₃ – hydrogenuhličitan; AnGAP – anionová mezera; tCO₂ – celkový CO₂; pO₂ – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na⁺ – sodíkový iont; K⁺ – draslíkový iont; Cl⁻ – chloridový iont

4.2.5 Dílčí zhodnocení experimentu

U druhého experimentu byla použita nižší biomasa tržních kaprů (60 kg/kád'), která odpovídá možnému stavu na začátku výlovu. Jako zdroj vzduchu byl využit centrální rozvod na sádkách, který dodával větší objem vzduchu ve srovnání s experimentem č. 1. Nicméně i v tomto případě nefungovalo vzduchování úplně dle představ. Napojení šesti odběrových míst – aeračních vložek v kádích (varianta **v** a **o**) na jeden, resp. dva vývody vzduchu určených pro jednu sádku neumožňovalo operativně regulovat množství vzduchu přiváděného do konkrétní kádě. Jako problematické se v tomto experimentu ukázalo dávkování kyslíku do vody (varianta **o**). Umístění regulačního průtokoměru O₂ v blízkosti kádě, fakticky na volno (bez ochrany), umožňovalo nepozorované a nechtěné změny dávky O₂ díky pohybu osob v bezprostředním okolí kádí. K takovým situacím může docházet běžně i při výlovu rybníka. Zapnutí dávkování kyslíku do kádí ještě před vysazením ryb způsobilo výrazné zvýšení jeho množství. Již na začátku experimentu bylo naměřeno nasycení vody kyslíkem na průměrné úrovni přes 180 %. Nízká biomasa ryb (109 kg.m⁻³) ve studené vodě nestačila dodávaný kyslík spotřebovat, a tak se jeho úroveň nesnižovala. Snížení dávky po 15' vedlo sice k poklesu nasycení O₂ ve vodě k 160 %, ale nestihlo již dojít k dalšímu poklesu do ukončení experimentu (60'). Ryba umístěná v kádích byla v zásadě klidná. Vývoj množství kyslíku ve vodě u varianty **v**, byl poněkud překvapivě velmi podobný s variantou **k**. Množství dodávaného vzduchu bylo pravděpodobně stále nedostatečné. Nicméně fyziologický stav ryb ve variantě **v** (pohledem sledovaných biomarkerů krve a tkání), byl o poznání lepší ve srovnání s variantou **k**. Přesycení vody kyslíkem u varianty **o**, vedlo k oxidativnímu stresu ryb (průkazné zvýšení ROS, TBARS, SOD u všech tkání). Nicméně toto zvýšení sledovaných biomarkerů je reverzibilní. Po experimentu nebyl



Tab. 6: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>žábry</i>					
ROS	% kontroly	101,157 $\pm$ 1,137 ^{k,v,o}	119,214 $\pm$ 3,972 ^{s,v,o}	105,171 $\pm$ 1,797 ^{s,k,o}	127,380 $\pm$ 4,970 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	0,233 $\pm$ 0,102 ^{k,o}	0,414 $\pm$ 0,048 ^{s,v,o}	0,208 $\pm$ 0,035 ^{k,o}	0,571 $\pm$ 0,126 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,421 $\pm$ 0,123 ^{k,v,o}	0,958 $\pm$ 0,099 ^{s,v,o}	0,539 $\pm$ 0,067 ^{s,k,o}	1,221 $\pm$ 0,075 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,120 $\pm$ 0,022 ^{k,o}	0,293 $\pm$ 0,099 ^{s,v,o}	0,151 $\pm$ 0,083 ^{k,o}	0,609 $\pm$ 0,049 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,597 $\pm$ 0,081 ^o	0,589 $\pm$ 0,116 ^o	0,577 $\pm$ 0,146 ^o	0,812 $\pm$ 0,126 ^{s,k,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	3,704 $\pm$ 0,455	3,520 $\pm$ 0,536	3,926 $\pm$ 0,287	3,948 $\pm$ 0,204
GST	nmol/min/mg protein	2,980 $\pm$ 0,209	3,103 $\pm$ 0,399	2,767 $\pm$ 0,515 ^o	3,388 $\pm$ 0,413 ^v
<i>sval</i>					
ROS	% kontroly	102,129 $\pm$ 1,233 ^{k,o}	122,500 $\pm$ 5,035 ^{s,v,o}	106,357 $\pm$ 1,704 ^{k,o}	131,386 $\pm$ 5,163 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	0,283 $\pm$ 0,069 ^o	0,300 $\pm$ 0,064 ^o	0,260 $\pm$ 0,038 ^o	0,434 $\pm$ 0,148 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,256 $\pm$ 0,042 ^o	0,303 $\pm$ 0,073	0,312 $\pm$ 0,075	0,367 $\pm$ 0,087 ^s
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,055 $\pm$ 0,020	0,046 $\pm$ 0,012	0,046 $\pm$ 0,008	0,043 $\pm$ 0,007
GR	nmol NADPH/min/mg protein	2,164 $\pm$ 0,190	2,075 $\pm$ 0,183	2,125 $\pm$ 0,464	2,151 $\pm$ 0,148
GSH	nmol GSH/mg protein	2,960 $\pm$ 0,345 ^o	2,600 $\pm$ 0,387	2,650 $\pm$ 0,299	2,392 $\pm$ 0,227 ^s
GST	nmol/min/mg protein	1,303 $\pm$ 0,150	1,249 $\pm$ 0,116	1,252 $\pm$ 0,117	1,293 $\pm$ 0,071
<i>mozek</i>					
ROS	% kontroly	100,730 $\pm$ 0,974 ^{k,o}	107,137 $\pm$ 2,704 ^{s,v,o}	103,529 $\pm$ 1,409 ^{k,o}	112,686 $\pm$ 4,558 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	1,048 $\pm$ 0,078 ^{k,o}	1,153 $\pm$ 0,071 ^{s,v,o}	1,000 $\pm$ 0,069 ^{k,o}	1,261 $\pm$ 0,100 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,181 $\pm$ 0,032 ^{k,o}	0,341 $\pm$ 0,058 ^{s,v,o}	0,191 $\pm$ 0,036 ^{k,o}	0,555 $\pm$ 0,166 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,402 $\pm$ 0,086	0,416 $\pm$ 0,125	0,330 $\pm$ 0,074 ^o	0,456 $\pm$ 0,126 ^v
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,225 $\pm$ 0,055	0,226 $\pm$ 0,062	0,250 $\pm$ 0,121	0,241 $\pm$ 0,060
GSH	nmol GSH/mg protein	4,787 $\pm$ 0,678 ^o	5,303 $\pm$ 0,601 ^o	4,854 $\pm$ 0,473 ^o	6,307 $\pm$ 0,440 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	4,725 $\pm$ 1,327 ^o	5,132 $\pm$ 0,656	5,310 $\pm$ 0,713	5,905 $\pm$ 0,399 ^s

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBARS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukováný glutathion; GST – glutathion S-transferáza

pozorován úhyn ryb. Těmto stavům je však lepší předcházet. Z tohoto důvodu je vhodné při použití aeračních vložek s oxygenací zahájit dodávání kyslíku do vody až po určitém zvýšení biomasy ryb v kádi, nikoli již před umístěním ryb. Tento poznatek bylo možné z organizačních důvodů zohlednit až při experimentech 5 a 6.

4.3. Třetí experiment 31. 3. 2020 – násadový kapr

Experiment proběhl na sádkách v Táboře na násadě kapra (K₂ – 0,50 kg.ks⁻¹). Cílem experimentu bylo potvrdit účinnost aerační vložky pro rybářskou kád' ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách. Do rybářské kádě bylo nasazeno 60 kg ryb (109 kg.m⁻³).



4.3.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

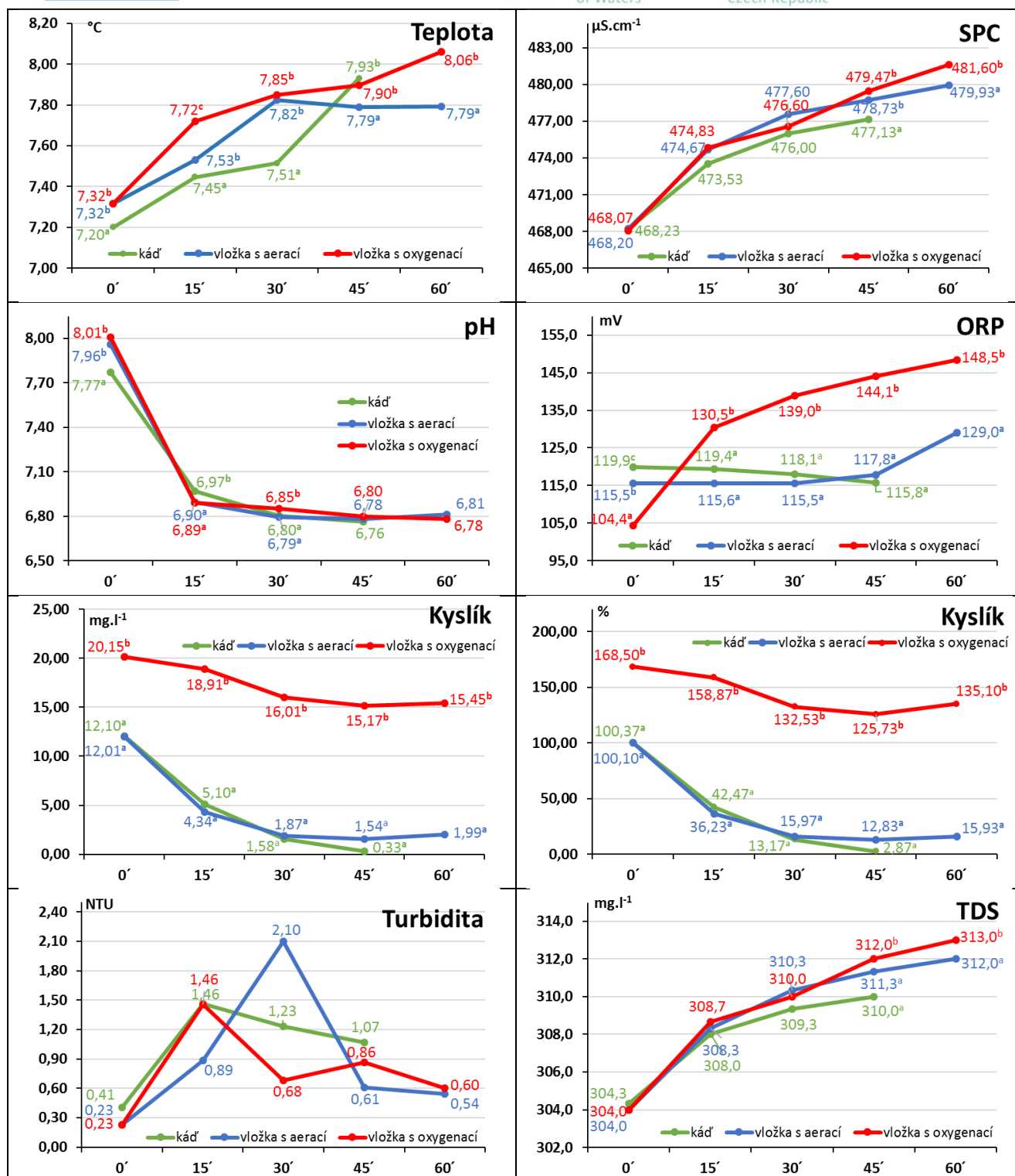
Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 3 je uvedena v grafu 5. V průběhu experimentu došlo k výraznějšímu zvyšování teploty vody v kádích, z 7,20–7,32 na 8,06 a 7,89 °C (varianty **o** a **v**, 60'). Teplota vody byla ovlivňována primárně aktuální teplotou vzduchu, která se v průběhu měření zvyšovala (zejména kolem poledne). V první polovině experimentu (0'–30') byla průkazně vyšší teplota vody zjištěna u variant s aerační vložkou (**v** a **o**). Nicméně u varianty **v** došlo v čase 30'–60' k poklesu teploty vody na 7,79 °C, zatímco u ostatních variant pokračoval její růst. Tyto rozdíly v teplotě byly ve srovnání s **v** statisticky průkazné. Důvodem tohoto průběhu bylo pravděpodobně krátkodobé ochlazení vzduchu (přehánka) při realizaci varianty **v**. Dne 31. března 2020 bylo počasí na Tábořsku velmi proměnlivé. Jeho proměny přicházeli velmi rychle. Vystřídal se během dne sychravé počasí, zataženo, sníh i sluníčko.

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Nejnížší hodnoty byly zjištěny u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení z 468,23 na 477,13 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **o**, kde se SPC zvýšila z 468,07 na 481,60 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, což bylo ve druhé polovině experimentu průkazně více, než u varianty **v** (z 468,20 na 479,93 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Hodnota pH vody v průběhu experimentu klesala poměrně výrazněji u všech variant. Malé, ale předci jen statisticky rozdílné hodnoty pH na začátku experimentu (**o**–8,01; **v**–7,96; **k**–7,77) je možné vysvětlit odlišným časem jejich zahájení (vliv fotosyntézy řas v rybníční vodě) a vzduchováním vody. Na začátku experimentu, za prvních 15' klesalo pH výrazněji (na 6,89 až 6,97), přičemž průkazně vyšší hodnota pH byla zjištěna u varianty **k** (6,97). Později se intenzita poklesu pH zpomalila. Za hlavní faktor této dynamické změny pH pozorované u všech variant je možné označit biomasu ryb. Tyto změny si je možné vysvětlovat dýcháním ryb, které v lepších podmínkách (více kyslíku) zpomalovali svůj metabolismus méně, a vylučovali více CO_2 do okolního prostředí. V dalších měřeních byl zjištěn jen pozvolný pokles pH s malými rozdíly mezi variantami.

Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni 104,4 mV (**o**), 115,5 mV (**v**) a 119,9 mV (**k**). Tyto hodnoty byly průkazně rozdílné. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo k určitému zvýšení hodnoty ORP u varianty **o**–130,5 mV, zatímco varianty **v** a **k** se prakticky nezměnily (**v**–115,6 mV; **k**–119,4 mV). Ve stejném trendu pokračoval vývoj ORP až do 45 minuty experimentu. Tyto rozdíly mezi variantami **o** a **v**, resp. **k** byly statisticky rozdílné. V závěru experimentu dosahovalo ORP u varianty **o** 148,5 mV, zatímco u varianty **v** jen 129,0 mV (průkazný rozdíl).

Koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) byla na začátku experimentu obdobná u varianty **k**–12,10 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a **v**–12,01 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (nasycení 100 %). Naproti tomu byla koncentrace kyslíku ve variantě statisticky významně vyšší (**o**–20,15 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; nasycení 168,5 %). Oxygenace vody (dávka cca 0,4 l $\text{O}_2\cdot\text{min}^{-1}$) u varianty **o** byla zahájena před vysazením ryb. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo díky biomase ryb ($109\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) k poklesu množství kyslíku ve vodě na 5,10 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ u varianty **k**, resp. 4,34 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ u varianty **v**. Průkazně vyšší úroveň O_2 byla dle předpokladu udržena ve variantě **o** (18,91 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). V polovině experimentu (30') došlo k dalšímu poklesu množství kyslíku ve vodě u varianty **k** a **v** (1,58; resp. 1,87 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). U varianty **o** došlo k dalšímu mírnému snížení množství O_2 na 16,01 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Nicméně rozdíl mezi variantami **k** a **v**, proti variantě **o**, byl statisticky průkazný. Při ukončení varianty **k** ve 45 minutě



Graf 5: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).

byla naměřená koncentrace kyslíku jen 0,33 mg.l⁻¹ (2,87 %). Ve variantě **v** se udrželo množství kyslíku nad 1,5 mg.l⁻¹, až do konce experimentu (60'), zatímco ve variantě **o** se pohybovalo nad 15 mg.l⁻¹. Tyto rozdíly mezi variantami byly průkazné. Obdobné trendy jsou patrné rovněž z koncentrace kyslíku ve vodě (%).



Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazoval u všech variant v průběhu experimentu poměrně rozkolísané hodnoty. Na začátku experimentu dosahoval hodnot 0,23 až 0,41 NTU. V průběhu prvních 15 minut experimentu se však hodnota turbidity zvýšila u všech variant na **v**–0,89 NTU; **o** a **k**–1,46 NTU. V polovině experimentu (30') došlo k poklesu zákalu u varianty **o** na 0,68 NTU, resp. **k** na 1,23 NTU. Naproti tomu byl zaznamenán nárůst turbidity ve variantě **v** na 2,10 NTU. V závěru experimentu byl již zaznamenán pokles zákalu u všech variant (**v**–0,54; **o**–0,60 NTU). Vysvětlení tohoto trendu je možné spatřovat v prvotní aktivitě a neklidu ryb bezprostředně po vysazení. Po určitém uklidnění se ryb v kádích došlo k postupnému poklesu zákalu vody. Z výsledků je opět patrné rychlejší pročištění vody v kádích s aeračními vložkami. Mezi jednotlivými variantami nebyl v průběhu celého experimentu zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

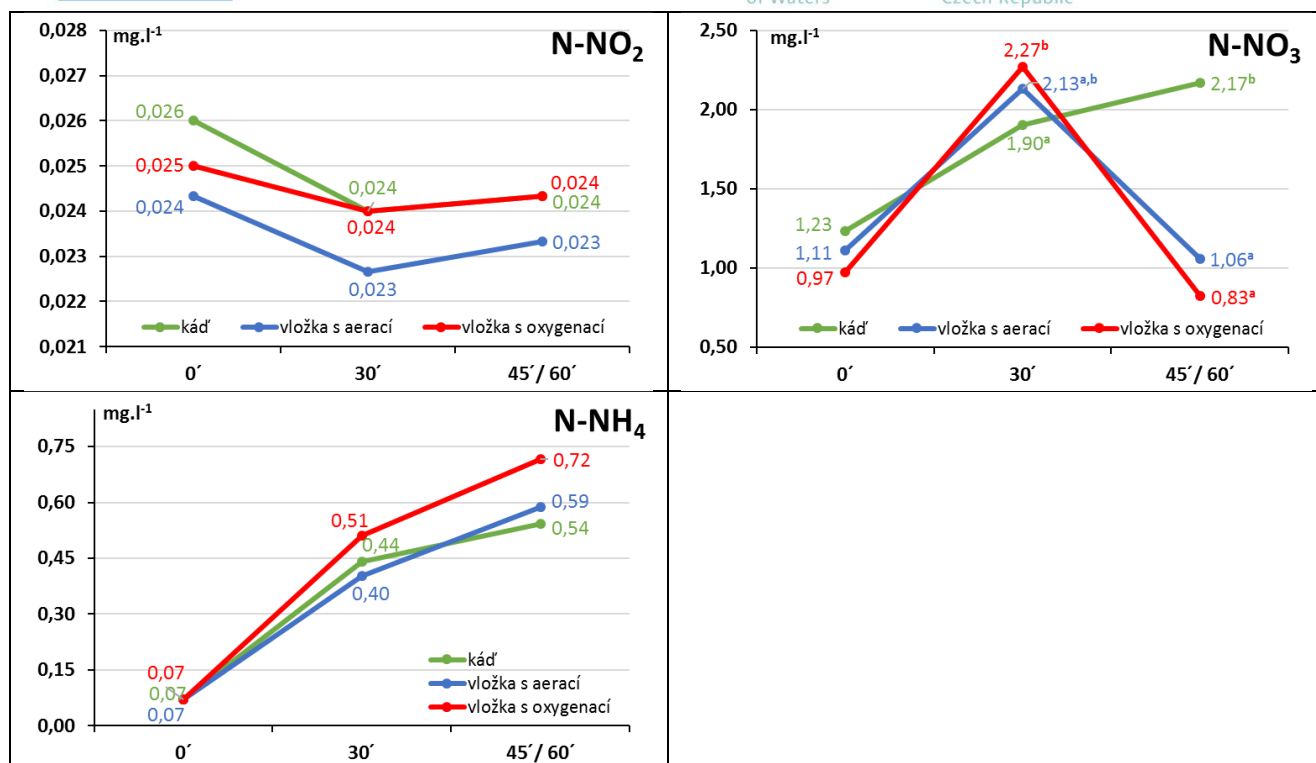
Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se na začátku experimentu pohybovala v úzkém rozsahu 304,0 až 304,3 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu docházelo k postupnému zvyšování hodnoty TDS. Průkazně vyšší hodnoty byly ve druhé polovině sledování (45') zjištěny u varianty **o** (312,0 mg.l⁻¹) ve srovnání s **v** (311,3 mg.l⁻¹) a **k** (310,0 mg.l⁻¹). V závěru experimentu (60') dosahovalo TDS 313,0 mg.l⁻¹ (**o**), zatímco varianta **v** měla 312,0 mg.l⁻¹. Mezi variantami byl zjištěn průkazný rozdíl.

4.3. 2 Laboratorní analýza vody

Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů N-NO₂, N-NO₃ a N-NH₄, jsou uvedeny v grafu 6. Koncentrace dusitanového dusíku se na začátku experimentu pohybovala v intervalu 0,024–0,026 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu (30') došlo u všech variant k jeho mírnému poklesu na 0,023 (**v**) až 0,024 mg.l⁻¹ (**o**, **k**). Při ukončení varianty **k** (45') nebyla zjištěna změna koncentrace N-NO₂ (0,024 mg.l⁻¹). Obdobný vývoj, resp. nepatrný nárůst, byl zjištěn rovněž při ukončení variant **v** a **o** (60'). Mezi hodnotami však nebyl zaznamenán žádný statistický rozdíl.

Koncentrace dusičnanového dusíku byla na začátku experimentu u všech variant mírně odlišná (**o**–0,97; **v**–1,11 a **k**–1,23 mg.l⁻¹). V průběhu experimentu (30') však množství N-NO₃ ve vodě všech variant vzrostlo na 1,90 mg.l⁻¹ (**k**), 2,13 mg.l⁻¹ (**v**) a 2,27 mg.l⁻¹ (**o**). Avšak při ukončení experimentu byl u varianty **k** (45') zjištěn další nárůst koncentrace N-NO₃ (2,17 mg.l⁻¹), zatímco u variant **o**, resp. **v** (60') byl zaznamenán pokles na 0,83 mg.l⁻¹, resp. 1,06 mg.l⁻¹. Tyto rozdíly již byly statisticky průkazné.

Na začátku sledování dosahovala koncentrace amoniakálního dusíku všech variant prakticky stejné hodnoty 0,07 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu došlo k postupnému zvýšení hodnoty N-NH₄. Nejvyšší koncentrace (0,72 a 0,59 mg.l⁻¹) byla zjištěna na konci experimentu (60') u varianty **o** a **v**, zatímco nižší hodnota 0,54 mg.l⁻¹ byla naměřena při ukončení varianty **k** (45').



Graf 6: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, $p = 0,05$).

4.3.3 Analýza krve

Výsledky analýzy krve ryb v rámci experimentu č. 3 jsou uvedeny v tabulce č. 7. U varianty **k** došlo vůči začátku experimentu (**s**), resp. vůči variantě **o** k průkaznému zvýšení GLU, LACT, AnGAP a průkaznému poklesu pH, HCO₃, tCO₂, pO₂, sO₂, K⁺. Bez průkazné změny vůči **s** byly hodnoty pCO₂, tHb, Na⁺, Cl⁻. Obdobné výsledky byly zjištěny u varianty **v**, kde došlo k průkaznému zvýšení (ve srovnání s **s**) GLU, LACT, AnGAP, naopak průkazný pokles byl zjištěn pro pH, HCO₃, tCO₂, K⁺. Bez změny vůči **s** zůstali u varianty **v**: pCO₂, pO₂, tHb, sO₂, Na⁺, Cl⁻. Ve variantě **o**, byl průkazný rozdíl vůči **s** zjištěn – pokles: K⁺, resp. zvýšení: pO₂ a sO₂. Ostatní parametry ve variantě **o** vykazovali obdobnou hodnotu jako **s**. Byly tedy statisticky rozdílné rovněž vůči **k** a **v**. Za důležité je možné označit, že u varianty **k** došlo k poklesu pO₂ a sO₂ vůči **s** (-62,41 % a -30,00 %) zatímco ve variantě **o** došlo naopak ke zvýšení těchto parametrů (+63,73 % a +91,60 %). Tyto parametry byly průkazně odlišné i mezi sebou. Data z rozboru krve poukazují na výraznou stresovou reakci z důvodu nedostatku kyslíku u varianty **k**, zatímco u varianty **v** je stresová reakce na nedostatek kyslíku ve vodě poněkud slabší (ve srovnání s **k**). Průkazně zvýšené hodnoty pO₂ a sO₂ rovněž poukazují u varianty **o** na přesycení vody kyslíkem.

4.3.4 Analýza tkání

Výsledky analýzy tkání ryb v rámci experimentu č. 3 jsou uvedeny v tabulce č. 8. U varianty **k** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**) u žaberní tkáně: ROS, SOD, CAT, GR, GSH a GST; u svaloviny: ROS, TBARS, SOD, GR a GSH; a mozkové tkáně: ROS, TBARS, SOD a GSH. Ostatní parametry (TBARS – žábry; CAT a GST – sval; CAT, GR, GST – mozek) byly na srovnatelné úrovni jako **s**, resp. **v**. Ve variantě **v** došlo k průkaznému rozdílu (zvýšení) jen u ROS v mozkové tkáni.



Tab. 7: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>plazma</i>					
GLU	mmol/l	2,386 $\pm$ 0,314 ^{k,v}	5,039 $\pm$ 0,837 ^{s,v,o}	3,607 $\pm$ 0,342 ^{s,k,o}	2,499 $\pm$ 0,393 ^{k,v}
LACT	mmol/l	3,583 $\pm$ 0,479 ^{k,v}	9,169 $\pm$ 0,594 ^{s,v,o}	7,639 $\pm$ 0,556 ^{s,k,o}	3,891 $\pm$ 0,429 ^{k,v}
<i>krev</i>					
pH		7,433 $\pm$ 0,079 ^{k,v}	7,324 $\pm$ 0,038 ^{s,o}	7,274 $\pm$ 0,101 ^{s,o}	7,431 $\pm$ 0,039 ^{k,v}
pCO ₂	mmHg	27,429 $\pm$ 4,499	28,857 $\pm$ 1,552	28,143 $\pm$ 2,949	27,000 $\pm$ 2,390
HCO ₃	mmol/l	16,800 $\pm$ 1,024 ^{k,v}	13,929 $\pm$ 1,405 ^{s,o}	12,500 $\pm$ 2,860 ^{s,o}	16,600 $\pm$ 1,763 ^{k,v}
AnGAP	mmol/l	19,457 $\pm$ 2,943 ^{k,v}	23,529 $\pm$ 1,877 ^{s,o}	23,786 $\pm$ 2,059 ^{s,o}	19,657 $\pm$ 1,874 ^{k,v}
tCO ₂	mmol/l	17,657 $\pm$ 1,010 ^{k,v}	14,814 $\pm$ 1,429 ^{s,o}	13,357 $\pm$ 2,923 ^{s,o}	17,443 $\pm$ 1,790 ^{k,v}
pO ₂	mmHg	40,286 $\pm$ 2,119 ^{k,o}	15,143 $\pm$ 1,959 ^{s,v,o}	37,286 $\pm$ 3,918 ^{k,o}	66,000 $\pm$ 19,324 ^{s,k,v}
tHb	g/dl	8,886 $\pm$ 1,915	9,286 $\pm$ 0,898	9,871 $\pm$ 1,975	8,843 $\pm$ 1,575
sO ₂	%	71,429 $\pm$ 5,341 ^{k,o}	<60 ^{s,v,o}	66,571 $\pm$ 2,871 ^{k,o}	85,429 $\pm$ 6,020 ^{s,k,v}
Na ⁺	mmol/l	145,857 $\pm$ 4,086	149,000 $\pm$ 2,268 ^o	146,286 $\pm$ 2,119	145,000 $\pm$ 4,036 ^k
K ⁺	mmol/l	3,529 $\pm$ 0,349 ^{k,v,o}	2,957 $\pm$ 0,292 ^{s,o}	2,486 $\pm$ 0,549 ^s	2,086 $\pm$ 0,356 ^{s,k}
Cl ⁻	mmol/l	113,429 $\pm$ 3,156	114,571 $\pm$ 1,400 ^o	112,429 $\pm$ 1,917	110,857 $\pm$ 3,980 ^k

Poznámka: GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO₃ – hydrogenuhličitan; AnGAP – anionová mezera; tCO₂ – celkový CO₂; pO₂ – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na⁺ – sodíkový iont; K⁺ – draslíkový iont; Cl⁻ – chloridový iont

Ostatní parametry varianty **v** byly plně na srovnatelné úrovni jako **s**, resp. byly odlišné vůči **k** a **o**. U varianty **o** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s** a taky **v**) u všech sledovaných parametrů a všech tkáních. Většina ukazatelů byla zvýšená i ve srovnání s variantou **k**. Z těchto dat je možné vyvodit, že ve variantě **k** došlo díky nedostatku kyslíku k dušení ryb, jenž vyvolalo stresovou reakci. U varianty **v** není patrný prakticky žádný oxidativní stres. Nicméně nevyšší hodnoty oxidativního stresu byly naměřeny ve variantě **o**. Tato skutečnost byla dána přesylením vody kyslíkem (průměr v průběhu experimentu 168,5–125,7 %).

4.3.5 Dílčí zhodnocení experimentu

U třetího experimentu byla opět použita nižší biomasa násadových kaprů (60 kg/kád'), která odpovídá možnému stavu na začátku výlovu. Zdrojem vzduchu byl centrální rozvod na sádkách (obtíže s regulací). Jako problematické se v tomto experimentu ukázalo opět dávkování kyslíku do vody (varianta **o**). Umístění regulačního průtokoměru O₂ v blízkosti kádí, fakticky na volno (bez ochrany), umožňovalo nechtěné změny dávky O₂ díky pohybu osob kolem kádí při měření kvality vody, resp. běžném pohybu. Zapnutí dávkování kyslíku do kádí ještě před vysazením ryb způsobilo výrazné zvýšení jeho množství již na začátku (přes 160 %). Nízká biomasa ryb (109 kg.m⁻³) ve studené vodě nestačila dodávaný kyslík spotřebovat, a tak se jeho úroveň snižovala pomalu. Další snížení jeho dávky po 15' vedlo k poklesu nasycení O₂ ve vodě k 130 %. Ryba umístěná v kádích byla v zásadě klidná. Vývoj množství kyslíku ve vodě u varianty **v**, byl opět velmi podobný s variantou **k** až do 45'. Množství dodávaného vzduchu bylo pravděpodobně stále nedostatečné. Nicméně fyziologický stav ryb ve variantě **v** (pohledem sledovaných biomarkerů krve a tkání), byl ve srovnání s variantou **k** průkazně lepší a odpovídal spíše začátku experimentu (**s**). Přesylením vody kyslíkem u varianty **o**, vedlo k oxidativnímu stresu ryb (průkazné zvýšení všech biomarkerů u všech tkání). Nicméně tato změna je



Tab. 8: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádka Tábor, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>žábry</i>					
ROS	% kontroly	100,029 $\pm$ 0,577 ^{k,o}	109,014 $\pm$ 0,820 ^{s,v,o}	100,514 $\pm$ 0,419 ^{k,o}	113,857 $\pm$ 2,717 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	0,291 $\pm$ 0,056 ^o	0,369 $\pm$ 0,047 ^o	0,277 $\pm$ 0,091 ^o	0,722 $\pm$ 0,126 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,349 $\pm$ 0,075 ^{k,o}	0,506 $\pm$ 0,116 ^{s,v,o}	0,321 $\pm$ 0,058 ^{k,o}	0,609 $\pm$ 0,085 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,190 $\pm$ 0,028 ^{k,o}	0,418 $\pm$ 0,120 ^{s,v,o}	0,196 $\pm$ 0,020 ^{k,o}	0,827 $\pm$ 0,104 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,598 $\pm$ 0,072 ^{k,o}	0,839 $\pm$ 0,116 ^{s,v}	0,570 $\pm$ 0,055 ^{k,o}	0,898 $\pm$ 0,092 ^{s,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	4,110 $\pm$ 0,261 ^{k,o}	4,811 $\pm$ 0,585 ^{s,v,o}	3,984 $\pm$ 0,402 ^{k,o}	6,261 $\pm$ 0,460 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	2,320 $\pm$ 0,387 ^{k,o}	3,459 $\pm$ 0,658 ^{s,v,o}	2,229 $\pm$ 0,282 ^{k,o}	4,980 $\pm$ 0,739 ^{s,k,v}
<i>sval</i>					
ROS	% kontroly	100,071 $\pm$ 0,255 ^{k,o}	105,043 $\pm$ 2,254 ^{s,v,o}	101,786 $\pm$ 0,863 ^{k,o}	109,600 $\pm$ 1,945 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	0,263 $\pm$ 0,050 ^{k,o}	0,345 $\pm$ 0,037 ^{s,v,o}	0,247 $\pm$ 0,035 ^{k,o}	0,447 $\pm$ 0,071 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,251 $\pm$ 0,049 ^{k,o}	0,406 $\pm$ 0,073 ^{s,v,o}	0,276 $\pm$ 0,057 ^{k,o}	0,854 $\pm$ 0,089 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,027 $\pm$ 0,007 ^o	0,039 $\pm$ 0,016 ^o	0,025 $\pm$ 0,005 ^o	0,083 $\pm$ 0,016 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	1,313 $\pm$ 0,121 ^{k,o}	1,916 $\pm$ 0,079 ^{s,v,o}	1,390 $\pm$ 0,119 ^{k,o}	2,326 $\pm$ 0,219 ^{s,k,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	3,127 $\pm$ 0,114 ^{k,o}	4,352 $\pm$ 0,415 ^{s,v,o}	3,119 $\pm$ 0,134 ^{k,o}	5,607 $\pm$ 0,695 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	1,178 $\pm$ 0,107 ^o	1,366 $\pm$ 0,218 ^o	1,176 $\pm$ 0,128 ^o	1,813 $\pm$ 0,299 ^{s,k,v}
<i>mozek</i>					
ROS	% kontroly	99,986 $\pm$ 0,837 ^{k,v,o}	106,014 $\pm$ 1,885 ^{s,v,o}	101,829 $\pm$ 0,891 ^{s,k,o}	109,200 $\pm$ 0,784 ^{s,k,v}
TBARS	nmol/mg protein	1,180 $\pm$ 0,104 ^{k,o}	2,508 $\pm$ 0,493 ^{s,v,o}	1,294 $\pm$ 0,136 ^{k,o}	3,830 $\pm$ 0,411 ^{s,k,v}
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,234 $\pm$ 0,041 ^{k,o}	0,406 $\pm$ 0,132 ^{s,v,o}	0,248 $\pm$ 0,051 ^{k,o}	0,652 $\pm$ 0,073 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,249 $\pm$ 0,040 ^o	0,296 $\pm$ 0,055 ^o	0,262 $\pm$ 0,044 ^o	0,502 $\pm$ 0,117 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,210 $\pm$ 0,019 ^o	0,239 $\pm$ 0,081 ^o	0,197 $\pm$ 0,029 ^o	0,759 $\pm$ 0,096 ^{s,k,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	4,337 $\pm$ 0,429 ^{k,o}	5,501 $\pm$ 0,480 ^{s,v,o}	4,340 $\pm$ 0,351 ^{k,o}	7,147 $\pm$ 0,763 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	5,858 $\pm$ 0,350 ^o	5,884 $\pm$ 0,669 ^o	5,182 $\pm$ 0,553 ^o	8,351 $\pm$ 0,855 ^{s,k,v}

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBARS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukovaný glutathion; GST – glutathion S-transferáza

reverzibilní. Po experimentu nebyl pozorován úhyn ryb. Těmto stavům je však lepší předcházet. Z tohoto důvodu je vhodné při použití aeračních vložek s oxygenací zahájit dodávání kyslíku do vody až po určitém zvýšení biomasy ryb v kádi, nikoli již před umístěním ryb. Tento poznatek bylo možné z organizačních důvodů zohlednit až při experimentech 5 a 6.



4.4. Čtvrtý experiment 31. 3. 2020 – štika

Experiment proběhnul na sádkách v Táboře na tržní štice ($\check{S}_t - 1,43 \text{ kg.ks}^{-1}$). Cílem experimentu bylo potvrdit účinnost aerační vložky pro rybářskou kád' ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách. Do rybářské kádě bylo nasazeno 25 kg ryb ($45,45 \text{ kg.m}^{-3}$), experiment byl proveden jen ve dvou opakováních pro nedostatek ryb.

4.4.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

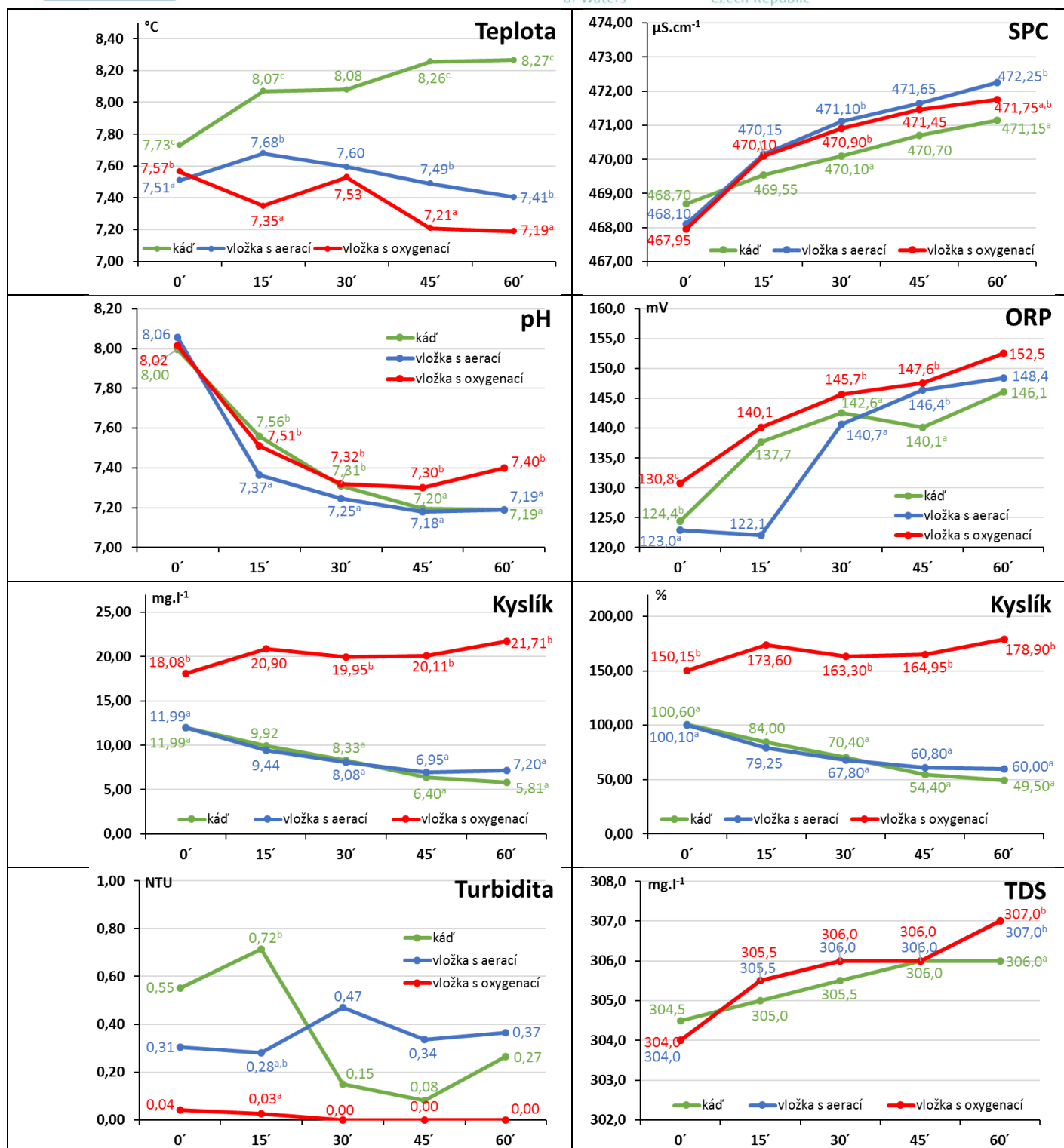
Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 4 je uvedena v grafu 7. V průběhu experimentu docházelo k mírným změnám teploty vody v kádích. Na začátku experimentu (0') se teplota vody pohybovala mezi $7,51-7,73 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (mezi variantami byl zjištěn průkazný rozdíl). Vývoj teploty vody v průběhu experimentu měl však v jednotlivých variantách odlišný průběh. Zatímco ve variantě **k** mírně stoupala ($60' - 8,27 \text{ }^{\circ}\text{C}$), u variant **s** aerační vložkou naopak klesala ($60' \text{ v} - 7,41$; $\text{o} - 7,19 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Tyto rozdíly mezi variantami byly průkazně rozdílné. Vysvětlení tohoto stavu je potřeba hledat především v časové prodlevě při realizaci jednotlivých variant a změně počasí (odpolední ochlazení). Teplota vody je ovlivňována primárně aktuální teplotou vzduchu. Tento fakt navíc u variant **v** a **o** umocňovalo vzduchování vzduchem ochlazeným dlouhým přívodním kovovým potrubím.

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Na začátku experimentu se pohybovala SPC na úrovni $467,95 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (**o**) až $468,7 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (**k**). V průběhu experimentu byly nejnižší hodnoty zjištěny u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení na $471,15 \mu\text{S.cm}^{-1}$ ($60'$). Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **v**, kde se SPC zvýšila z $468,10$ na $472,25 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Přibližně uprostřed mezi varianty **v** a **k** se na závěr experimentu dostala varianta **o** ($471,75 \mu\text{S.cm}^{-1}$).

Hodnota pH vody v průběhu experimentu klesala u všech variant z hodnot $8,00-8,06$. V průběhu prvních 15 minut experimentu byl zjištěn největší pokles a to na $7,37$ u varianty **v**, zatímco ostatní varianty měly statisticky průkazně vyšší hodnotu $7,51$ (**o**) a $7,56$ (**k**). Další pokles až do konce experimentu ($30'-60'$) byl velmi mírný (**k** a **v**– $7,19$), resp. u varianty **o** došlo naopak k určitému statisticky průkaznému navýšení hodnoty pH– $7,40$ ($60'$).

Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni $123,0 \text{ mV}$ (**v**), $124,4 \text{ mV}$ (**k**) a u varianty **o** $130,8 \text{ mV}$. Mezi jednotlivými variantami byl statisticky průkazný rozdíl. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo ke zvýšení hodnoty ORP u varianty **k**– $137,7 \text{ mV}$ a **o**– $140,1 \text{ mV}$, zatímco pro variantu **v** byl zaznamenán mírný pokles průměrné hodnoty na $122,1 \text{ mV}$. Tyto rozdíly mezi variantami však nebyly statisticky rozdílné. V dalších fázích experimentu pokračoval růst hodnoty ORP ve všech variantách s výjimkou $45'$ u varianty **k** ($140,1 \text{ mV}$), kdy došlo k mírnému poklesu v porovnání s $30'$ ($142,6 \text{ mV}$), nicméně poté ($60'$) se hodnota opět zvýšila. Mezi variantami byl zjištěn statistický rozdíl. V závěru experimentu ($60'$) byly průměrné hodnoty ORP u varianty **k** na $146,1 \text{ mV}$, u varianty **v**– $148,4 \text{ mV}$ a **o**– $152,5 \text{ mV}$, přičemž tyto rozdíly nebyly statisticky významné.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg.l^{-1}) bylo na začátku experimentu u varianty **v** a **k** shodné a to: $11,99 \text{ mg.l}^{-1}$; naproti tomu průkazně vyšší hodnota byla naměřena ve variantě **o**– $18,08 \text{ mg.l}^{-1}$ ($150,15 \text{ } \%$). Díky velmi nízké biomase ryb ($45,45 \text{ kg.m}^{-3}$) byl pokles množství kyslíku ve variantě **k** a **v** velmi pozvolný a prakticky shodný. Na konci experimentu ($60'$) dosahovala koncentrace kyslíku u varianty **k** $5,81 \text{ mg.l}^{-1}$ (nasycení $49,5 \text{ } \%$), a $7,20 \text{ mg.l}^{-1}$ (nasycení $60,0 \text{ } \%$) ve variantě **v**. Mezi těmito variantami nebyl zjištěn průkazný rozdíl při žádném měření. U varianty **o**, bylo po celou dobu sledování zjištěno vyšší množství kyslíku (kolem 20 mg.l^{-1}). V závěru experimentu dosahovalo nasycené vody kyslíkem ve variantě **o** až



Graf 7: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádka Tábor, štika tržní (průměrné hodnoty ze dvou opakování, p – 0,05).

178,90 % (21,71 mg.l⁻¹). Tyto hodnoty byly průkazně vyšší (s výjimkou 30') ve srovnání s variantami v a k. Takto vysokou hladinu kyslíku, již od samého začátku experimentu, bylo obtížné snížit díky nízké biomase ryb i při omezení množství dodávaného kyslíku na



$0,1 \text{ l O}_2 \cdot \text{min}^{-1}$. Navíc bylo opakovaně zjištěno nechtěné posunutí regulačního kolečka na průtokoměru (zvýšení dávky O_2).

Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazoval v jednotlivých variantách poněkud odlišný vývoj. Na začátku experimentu dosahoval hodnot $0,04 \text{ NTU}$ (**o**), $0,31 \text{ NTU}$ (**v**) a $0,55 \text{ NTU}$ (**k**). Mezi hodnotami nebyl zjištěn statistický rozdíl. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo u varianty **k** ke zvýšení turbidity na $0,72 \text{ NTU}$, zatímco u variant **v** a **o** byl zaznamenán mírný pokles ($0,28$ a $0,03 \text{ NTU}$). Mezi variantou **o** a **k** byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Na konci experimentu po 60 minutách došlo k poklesu zákalu ve variantě **o** na $0,00 \text{ NTU}$, resp. $0,27 \text{ NTU}$ (**k**). U varianty **v** byl zjištěn naopak její nepatrný nárůst na $0,37 \text{ NTU}$. Mezi jednotlivými variantami již nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl. V obecné rovině se jedná o velmi nízké hodnoty a zjištěný průběh změn je možné vysvětlovat primárně v pohybové aktivitě ryb.

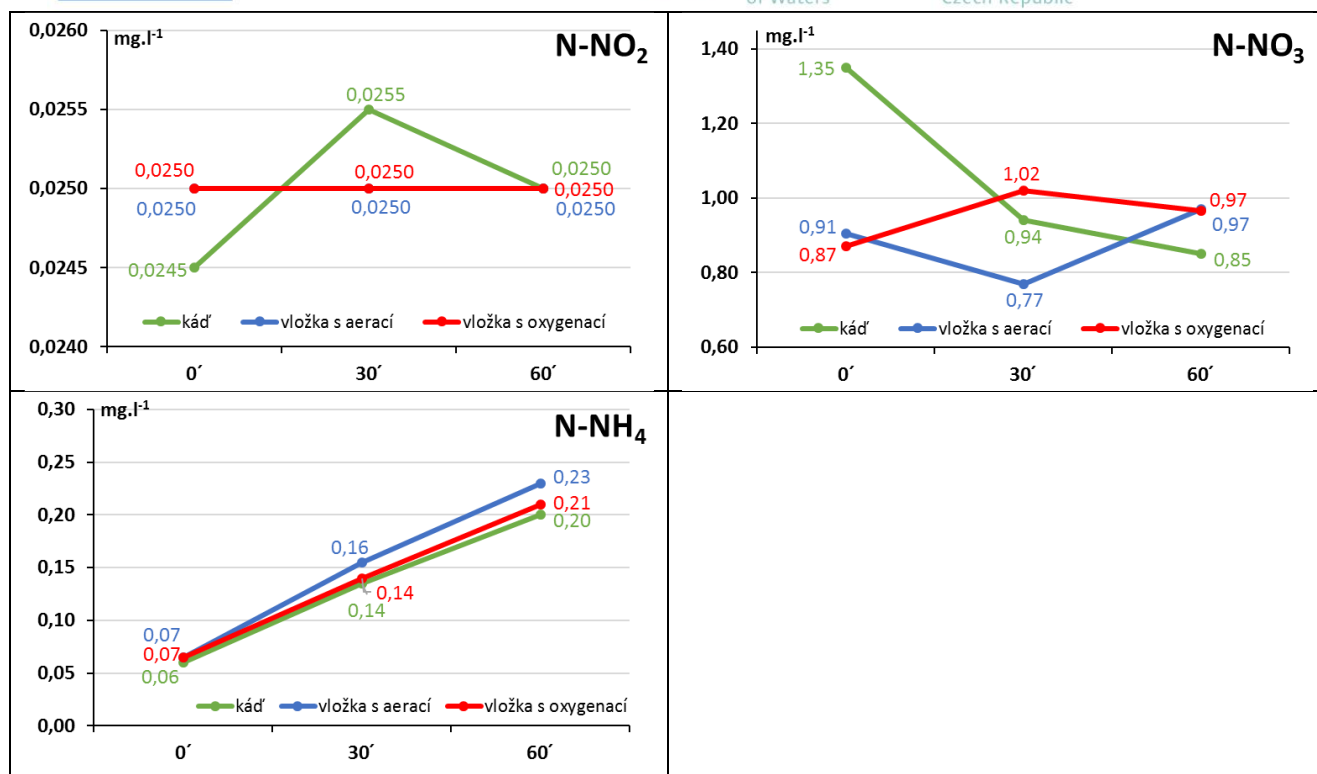
Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se na začátku experimentu pohybovala v úzkém rozpětí $304,00 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (**o** a **v**) až $304,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (**k**). V průběhu experimentu docházelo k postupnému zvyšování hodnoty TDS u všech variant, přičemž nižší roveň vykazovala varianta **k**. Překvapivě stejné hodnoty byly naměřeny u varianty **v** a **o**. V závěru experimentu dosahovalo TDS $307 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (**o** a **v**), zatímco varianta **k** měla jen $306,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Mezi jednotlivými variantami byl zjištěn statistický rozdíl až v závěru experimentu ($60'$).

4.4. 2 Laboratorní analýza vody

Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů N-NO_2 , N-NO_3 a N-NH_4 , jsou uvedeny v grafu 8. Koncentrace dusitanového dusíku se na začátku experimentu pohybovala na úrovni $0,0245\text{--}0,0250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. V průběhu experimentu ($30'$) došlo u varianty **k** k jeho mírnému zvýšení na $0,0255$, zatímco u varianty **v** a **o** zůstal beze změny. Při ukončení varianty **k** ($60'$) byla zjištěna o něco nižší koncentrace N-NO_2 ($0,0250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Ostatní varianty (**o** a **v**) zůstali i nadále beze změny na stejné hodnotě. Mezi hodnotami nebyl zaznamenán žádný statistický rozdíl.

Koncentrace dusičnanového dusíku byla na začátku experimentu u jednotlivých variant mírně odlišná (**o**– $0,87$; **v**– $0,91$ a **k**– $1,35 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). V průběhu experimentu ($30'$) však množství N-NO_3 ve variantě **o** vzrostlo na $1,02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, zatímco u varianty **k** pokleslo na $0,94 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Ve variantě **v** byl zjištěn rovněž mírný pokles na $0,77 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ($30'$). Při ukončení experimentu ($60'$) byl u varianty **k** zjištěn další pokles koncentrace N-NO_3 ($0,85 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), zatímco u variant **o**, došlo k jen mírnému poklesu na $0,97 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Na stejnou hodnotu však došlo ke zvýšení ve variantě **v**. Tyto rozdíly nebyly statisticky významné.

Na začátku sledování dosahovala koncentrace amoniakálního dusíku u všech variant prakticky stejné hodnoty $0,06$ až $0,07 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. V průběhu experimentu došlo k postupnému zvýšení hodnoty N-NH_4 , a to překvapivě u všech variant. Nejvyšší koncentrace ($0,23 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) byla zjištěna na konci experimentu ($60'$) u varianty **v**, zatímco nižší hodnoty $0,21$ a $0,20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ byly naměřeny při ukončení varianty **o** a **k** (vše bez statistických rozdílů). Zvýšení koncentrace N-NH_4 v průběhu experimentu je možné vysvětlovat jejich exkrecí rybami. Lepší kyslíkové poměry díky nízké biomase ryb ($45,45 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) ve všech variantách umožňovaly rybám udržet si určitou metabolickou aktivitu.



Graf 8: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádka Tábor, štika tržní (průměrné hodnoty ze dvou opakování, $p = 0,05$).

4.4.3 Analýza krve

Výsledky analýzy krve ryb v rámci experimentu č. 4 jsou uvedeny v tabulce č. 9. U varianty **k** došlo vůči začátku experimentu (**s**) k průkaznému zvýšení GLU, LACT, AnGAP, K^+ a průkaznému poklesu pH, pCO_2 , pO_2 , SO_2 . Bez průkazné změny vůči **s** byly hodnoty HCO_3^- , tCO_2 , tHb, Na^+ , Cl^- . Obdobné výsledky byly zjištěny u varianty **v**, kde došlo k průkaznému zvýšení (ve srovnání s **s**) jen u GLU a naopak průkazný pokles byl zjištěn jen u pCO_2 . Ve variantě **o** byl zjištěn průkazný rozdíl vůči **s** v poklesu: pCO_2 , resp. zvýšení: AnGAP, pO_2 a SO_2 . Za důležité je možné označit, že u varianty **k**, resp. **v** došlo k poklesu pO_2 a SO_2 vůči **s** (-44,79 % a -24,57 %), resp. **v** (-6,11 % a -4,74 %), zatímco ve variantě **o** došlo naopak ke zvýšení těchto parametrů (+37,33 % a +16,16 %). Tyto parametry byly průkazně odlišné i mezi sebou. Data z rozboru krve poukazují na stresovou reakci z důvodu nedostatku kyslíku u varianty **k**, zatímco u varianty **o** ryby reagovaly na přesycení vody kyslíkem.

4.4.4 Analýza tkání

Výsledky analýzy tkání ryb v rámci experimentu č. 4 jsou uvedeny v tabulce č. 10. U varianty **k** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**) u žaberní tkáně: ROS, TBARS, SOD, CAT a GR; u svaloviny: ROS, TBARS, SOD a GSH; u mozkové tkáně: ROS, TBARS, SOD, CAT, GSH a GST. Ostatní parametry (GSH a GST – žábry; CAT, GR, GST – sval; GR – mozek) byly na srovnatelné úrovni jako **s**. Ve variantě **v** byly všechny parametry bez průkazného rozdílu vůči začátku experimentu (**s**). U varianty **o** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**, ale i **v**) takřka u všech sledovaných parametrů s výjimkou: GR a GST – sval. Průkazně vyšší byla většina sledovaných parametrů ve variantě **o** i vůči variantám **k** a **v**. Z těchto dat je možné vyvodit, že ve variantě



Tab. 9: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádka Tábor, štika tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>plazma</i>					
GLU	mmol/l	2,389 $\pm$ 0,239 ^{k,v}	8,144 $\pm$ 2,132 ^{s,v,o}	4,994 $\pm$ 0,722 ^{s,k,v}	3,607 $\pm$ 0,220 ^{k,v}
LACT	mmol/l	3,703 $\pm$ 0,638 ^k	12,564 $\pm$ 3,197 ^{s,v,o}	3,924 $\pm$ 0,669 ^k	3,334 $\pm$ 0,259 ^k
<i>krev</i>					
pH		7,384 $\pm$ 0,060 ^k	7,189 $\pm$ 0,099 ^{s,v,o}	7,374 $\pm$ 0,059 ^k	7,370 $\pm$ 0,048 ^k
pCO ₂	mmHg	38,000 $\pm$ 10,254 ^{k,v,o}	27,714 $\pm$ 3,731 ^s	26,286 $\pm$ 3,807 ^s	29,000 $\pm$ 5,606 ^s
HCO ₃	mmol/l	12,686 $\pm$ 1,235	10,643 $\pm$ 3,002	13,229 $\pm$ 1,640	12,500 $\pm$ 1,612
AnGAP	mmol/l	22,371 $\pm$ 1,956 ^{k,v}	28,400 $\pm$ 2,427 ^{s,v,o}	23,300 $\pm$ 1,456 ^{k,o}	26,171 $\pm$ 1,296 ^{s,k,v}
tCO ₂	mmol/l	13,800 $\pm$ 1,163	11,486 $\pm$ 3,022	14,043 $\pm$ 1,643	13,357 $\pm$ 1,743
pO ₂	mmHg	63,143 $\pm$ 7,453 ^{k,o}	34,857 $\pm$ 9,493 ^{s,v,o}	59,286 $\pm$ 3,493 ^{k,o}	86,714 $\pm$ 20,246 ^{k,v}
tHb	g/dl	9,314 $\pm$ 2,092	9,967 $\pm$ 1,505	9,143 $\pm$ 1,288	10,186 $\pm$ 2,201
sO ₂	%	66,286 $\pm$ 5,391 ^{k,o}	<60 ^{s,v,o}	63,143 $\pm$ 1,552 ^{k,o}	77,000 $\pm$ 7,856 ^{s,k,v}
Na ⁺	mmol/l	143,429 $\pm$ 7,267	148,000 $\pm$ 8,332	149,000 $\pm$ 2,828	151,571 $\pm$ 2,611
K ⁺	mmol/l	2,143 $\pm$ 0,657 ^k	3,929 $\pm$ 1,713 ^{s,v,o}	2,671 $\pm$ 0,577 ^k	2,343 $\pm$ 0,510 ^k
Cl ⁻	mmol/l	110,429 $\pm$ 4,371	112,857 $\pm$ 6,081	115,429 $\pm$ 2,259	115,286 $\pm$ 1,979

Poznámka: GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO₃ – hydrogenuhličitan; AnGAP – anionová mezera; tCO₂ – celkový CO₂; pO₂ – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na⁺ – sodíkový iont; K⁺ – draslíkový iont; Cl⁻ – chloridový iont

k došlo díky nedostatku kyslíku k mírným znakům dušení ryb, jenž vyvolalo stresovou reakci. Ve variantě **v**, příznaky dušení ryb nebyly zjištěny. Nicméně nejvyšší hodnoty oxidativního stresu byly naměřeny ve variantě **o**. Tato skutečnost byla dána přesycením vody kyslíkem (průměr v průběhu experimentu 150–178 %).

4.4.5 Dílčí zhodnocení experimentu

U čtvrtého experimentu byla použita velmi nízká biomasa tržních štik (25 kg/kád') a to jen ve dvou opakováních pro nedostatek ryb (kompromisní termín experimentu kvůli pandemii Covid-19). Jako zdroj vzduchu byl využit centrální rozvod na sádkách (obtíže s regulací). Za velmi problematické se v tomto experimentu ukázalo opět dávkování kyslíku do vody (varianta **o**). Biomasa ryb na úrovni 45,45 kg.m³ nedokázala spotřebovávat dodávaný kyslík. I při snižování jeho množství na průtokoměru nebylo možné docílit v průběhu experimentu snížení nasycení vody kyslíkem. Jediným řešením by bylo úplné zastavení dodávky O₂ do kádí, to by ale porušilo dizajn experimentu. Faktem je, že o dopadech přesycení vody kyslíkem na sledované biomarkery jsme se dozvěděli až zpětně (cca 6 týdnů), po laboratorním zpracování vzorků krve a tkáni (experimenty č. 2 až 4 se uskutečnili v jeden den). U tohoto experimentu se opět neosvědčilo umístění regulačního průtokoměru O₂ v blízkosti kádě bez ochrany. Díky pohybu osob kolem kádí docházelo opakovaně k nechtěné změně dávky O₂. Zapnutí dávkování kyslíku do kádí ještě před vysazením ryb způsobilo výrazné zvýšení jeho množství již na začátku (přes 150 %) – snížené nastavení dávky O₂ po experimentu č. 3. Nízká biomasa ryb (45 kg.m³) ve studené vodě nestačila dodávaný kyslík spotřebovat, a tak se jeho úroveň snižovala pomalu, resp. se zvyšila.



Tab. 10: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádka Tábor, štika tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>žábry</i>					
ROS	% kontroly	100,429 $\pm$ 1,031 ^{k,o}	108,071 $\pm$ 1,587 ^{s,v,o}	101,586 $\pm$ 0,761 ^{k,o}	111,614 $\pm$ 1,607 ^{s,k,v}
TBA	nmol/mg protein	6,564 $\pm$ 0,208 ^{k,o}	7,311 $\pm$ 0,496 ^{s,v,o}	6,465 $\pm$ 0,308 ^{k,o}	9,229 $\pm$ 0,535 ^{s,k,v}
RS					
SOD	nmol NBT/min/mg protein	11,853 $\pm$ 1,228 ^{k,o}	15,281 $\pm$ 0,890 ^{s,v}	11,187 $\pm$ 0,559 ^{k,o}	16,571 $\pm$ 1,783 ^{s,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	2,616 $\pm$ 0,462 ^{k,o}	3,826 $\pm$ 0,483 ^{s,v,o}	2,758 $\pm$ 0,340 ^{k,o}	5,426 $\pm$ 0,674 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	9,277 $\pm$ 0,734 ^{k,o}	10,545 $\pm$ 1,474 ^{s,o}	9,502 $\pm$ 0,596 ^o	12,753 $\pm$ 1,086 ^{s,k,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	18,653 $\pm$ 1,514 ^o	19,294 $\pm$ 0,963 ^o	19,063 $\pm$ 0,658 ^o	21,628 $\pm$ 1,096 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	13,168 $\pm$ 0,480 ^o	13,559 $\pm$ 0,691 ^o	13,250 $\pm$ 1,082 ^o	17,230 $\pm$ 1,490 ^{s,k,v}
<i>sval</i>					
ROS	% kontroly	100,171 $\pm$ 0,440 ^{k,o}	108,014 $\pm$ 1,276 ^{s,v,o}	101,814 $\pm$ 0,940 ^{k,o}	112,500 $\pm$ 3,186 ^{s,k,v}
TBA	nmol/mg protein	4,536 $\pm$ 0,691 ^{k,o}	5,935 $\pm$ 0,649 ^{s,v,o}	4,460 $\pm$ 0,548 ^{k,o}	8,305 $\pm$ 0,424 ^{s,k,v}
RS					
SOD	nmol NBT/min/mg protein	10,572 $\pm$ 1,121 ^{k,o}	13,398 $\pm$ 0,688 ^{s,v,o}	10,110 $\pm$ 1,058 ^{k,o}	16,571 $\pm$ 1,783 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,921 $\pm$ 0,124 ^{k,o}	1,164 $\pm$ 0,149 ^o	1,047 $\pm$ 0,117 ^o	1,459 $\pm$ 0,125 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	4,796 $\pm$ 0,275	4,700 $\pm$ 0,532	4,328 $\pm$ 0,526	5,421 $\pm$ 1,066
GSH	nmol GSH/mg protein	17,610 $\pm$ 0,917 ^{k,o}	20,547 $\pm$ 1,320 ^{s,v}	18,080 $\pm$ 1,719 ^{k,o}	20,904 $\pm$ 1,234 ^{s,v}
GST	nmol/min/mg protein	13,663 $\pm$ 0,671	14,053 $\pm$ 1,187	13,856 $\pm$ 0,965	14,622 $\pm$ 1,042
<i>mozek</i>					
ROS	% kontroly	100,029 $\pm$ 0,654 ^{k,o}	105,371 $\pm$ 2,370 ^{s,v,o}	101,300 $\pm$ 0,956 ^{k,o}	108,114 $\pm$ 1,619 ^{s,k,v}
TBA	nmol/mg protein	3,826 $\pm$ 0,315 ^{k,o}	4,605 $\pm$ 0,484 ^{s,v,o}	3,941 $\pm$ 0,550 ^{k,o}	5,755 $\pm$ 0,543 ^{s,k,v}
RS					
SOD	nmol NBT/min/mg protein	49,901 $\pm$ 2,373 ^{k,o}	55,262 $\pm$ 5,028 ^{s,v,o}	49,495 $\pm$ 0,716 ^{k,o}	65,171 $\pm$ 4,703 ^{s,k,v}
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	116,719 $\pm$ 9,293 ^{k,o}	125,641 $\pm$ 7,769 ^{s,v,o}	111,005 $\pm$ 2,172 ^{k,o}	138,304 $\pm$ 5,792 ^{s,k,v}
GR	nmol NADPH/min/mg protein	6,210 $\pm$ 0,858 ^o	7,199 $\pm$ 1,242 ^{v,o}	5,931 $\pm$ 0,558 ^{k,o}	8,468 $\pm$ 1,173 ^{s,k,v}
GSH	nmol GSH/mg protein	81,013 $\pm$ 6,694 ^{k,o}	88,108 $\pm$ 5,599 ^{s,v,o}	79,440 $\pm$ 5,125 ^{k,o}	97,680 $\pm$ 4,725 ^{s,k,v}
GST	nmol/min/mg protein	58,961 $\pm$ 2,195 ^{k,o}	74,862 $\pm$ 5,588 ^{s,v,o}	60,913 $\pm$ 3,089 ^{k,o}	89,790 $\pm$ 6,932 ^{s,k,v}

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBRAS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukovaný glutathion; GST – glutathion S-transferáza

Štika umístěná v kádích byla v zásadě klidná. Vývoj množství kyslíku ve vodě u varianty **v**, byl opět velmi podobný s variantou **k** až do 60'. Množství dodávaného vzduchu bylo pravděpodobně stále nedostatečné. Nicméně fyziologický stav ryb ve variantě **v** (pohledem sledovaných biomarkerů krve a tkání), byl ve srovnání s variantou **k** průkazně lepší a odpovídal spíše začátku experimentu (**s**). Přesycení vody kyslíkem u varianty **o**, vedlo k oxidativnímu stresu ryb (průkazné zvýšení takřka všech biomarkerů u všech tkání). Nicméně tato změna je reverzibilní. Po experimentu nebyl u štik pozorován žádný úhyn. Z tohoto důvodu je vhodné při použití aeračních vložek s oxygenací zahájit dodávání kyslíku do vody až po určitém zvýšení biomasy ryb v kádi, nikoli již před umístěním ryb. Tento poznatek bylo možné z organizačních důvodů zohlednit až při experimentech 5 a 6.



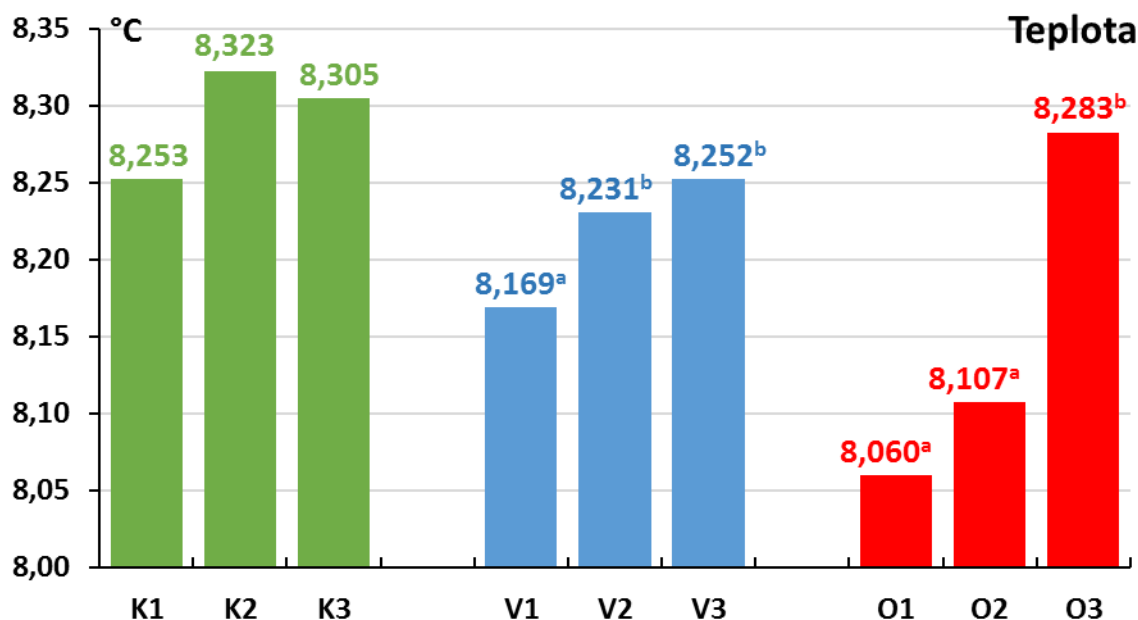
4.5. Pátý experiment 13. 10. 2020 – násadový kapr

Experiment proběhl na rybníku Stará Komora na násadě kapra ($K_2 - 0,51 \text{ kg.ks}^{-1}$). Cílem experimentu bylo potvrdit účinnost aerační vložky pro rybářskou kád', ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách, s ohledem na provedené technické úpravy u rozvodů plynů. Zároveň bylo prakticky ověřováno využití kádí s aerační vložkou přímo na výlovu rybníka. Kádě byly naplněné poněkud kalnější vodou z loviště den před výlovem a nebyly před experimentem použity k uskladnění jiných ryb. Do rybářské kádě bylo nasazeno 100 kg ryb ($181,8 \text{ kg.m}^{-3}$). V rámci experimentu bylo využito provozní situace – prostoje v dopravě a u varianty **v** a **o** bylo provedeno sledování až do 120', resp. 90'. Při experimentu se kladl velký důraz na předejití nadměrným dávkám kyslíku (varianta **o**), jenž bylo zjištěno ve formě oxidativního stresu při experimentech č. 2 až 4 na jaře 2020.

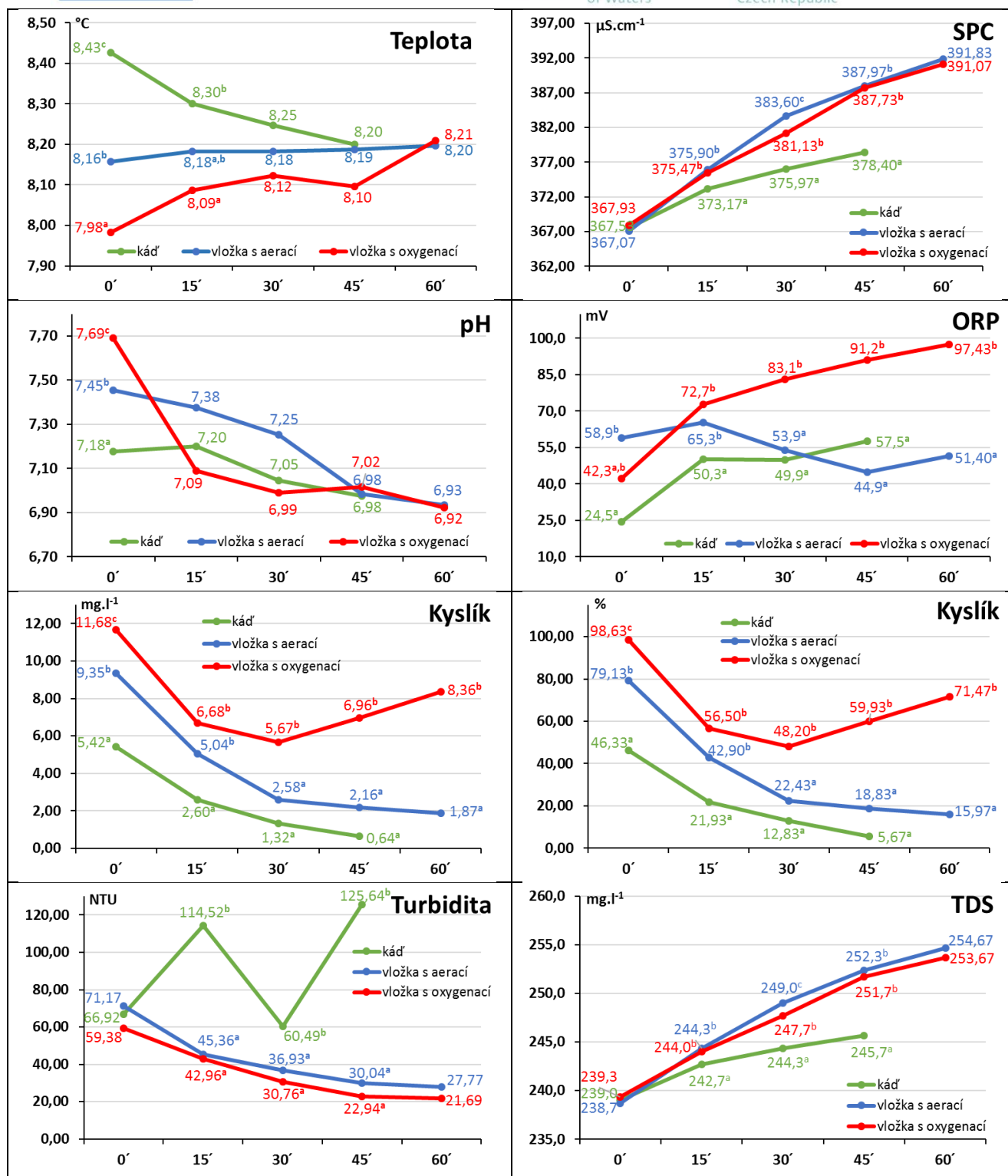
4.5.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 5 je uvedena v grafu 10 (standardní experiment 0'–60') a 11 (prodloužené sledování 0'–120'). Pro doplnění a ilustraci bylo rovněž prováděno měření kvality vody (vždy na stejném místě) v lovišti (před výpusti) a v síti s rybami – graf 12.

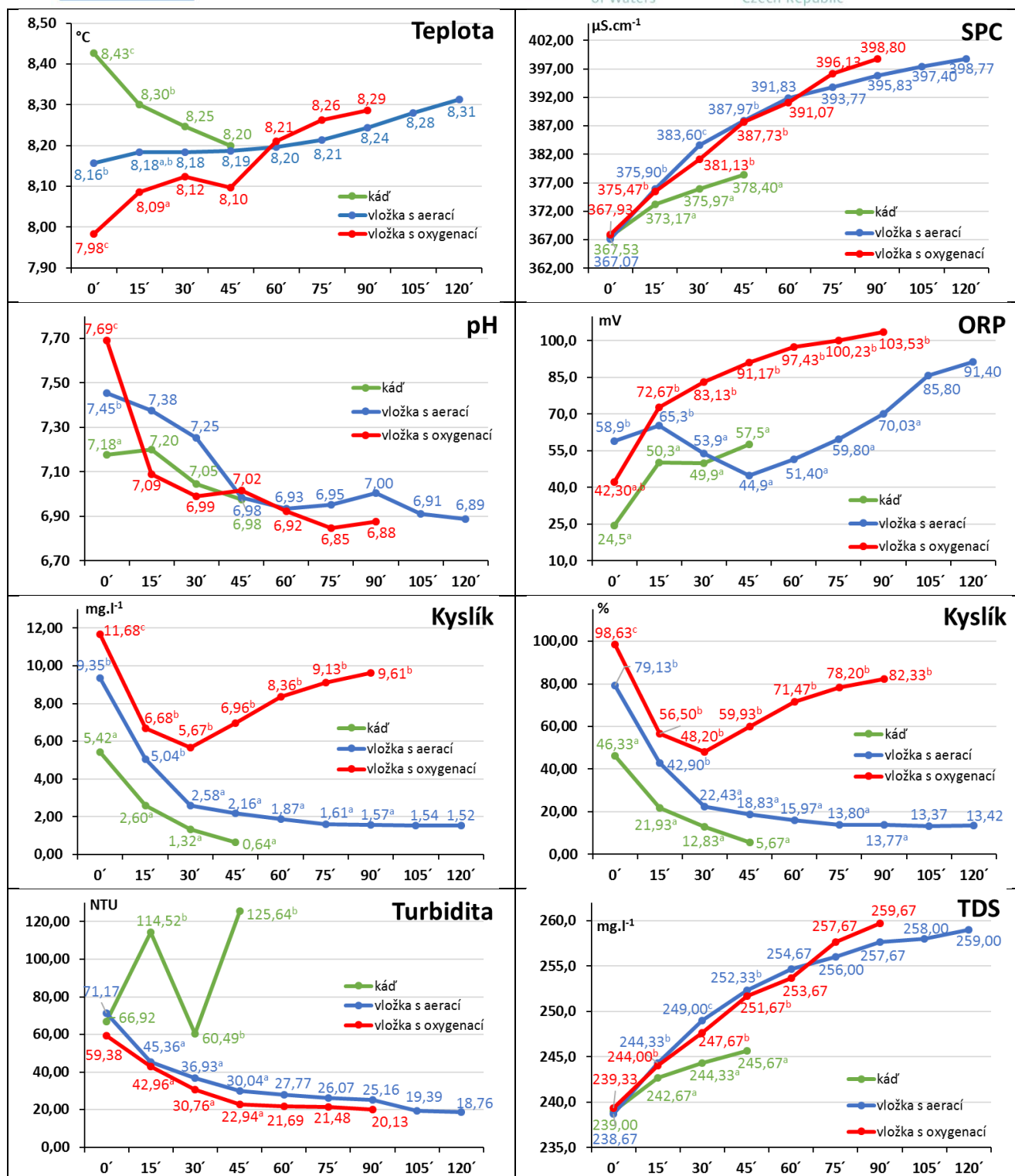
Teplota vody byla při tomto experimentu výrazněji ovlivňována především aktuální teplotou vzduchu, která se v průběhu dne měnila. Tento trend je dobře patrný v grafu 12 (vývoj teploty vody v lovišti a síti, s označením začátku sledování jednotlivých variant v čase). V průběhu experimentu docházelo u varianty **k** k mírnému snižování teploty vody v kádích z $8,43$ na $8,20^\circ\text{C}$ (45'), neboť se s ní začalo jako první. Ranní pokles teploty po rozbřesku snížil rovněž teplotu vody na začátku varianty **v** (0') na $8,16^\circ\text{C}$, resp. u varianty **o** na až $7,98^\circ\text{C}$. Tyto rozdíly teplot na začátku experimentu byly statisticky průkazně odlišné, nicméně jejich



Graf 9. Porovnání rozdílů teploty vody v kádích (průměr za všechna měření) mezi jednotlivými opakováními variant: **k**–kádě (zelená, $n=4$), **v**–aerační vložka (modře, $n=9$) a **o**–aerační vložka s oxygenací (červeně, $n=7$) při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, K_2 ($p=0,05$).



Graf 10: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p=0,05).



Graf 11: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p=0,05).

fyziologický dopad na metabolismus ryb byl minimální. Varianty s aerační vložkou **v a o**, které začaly později, vykazovaly postupný nárůst teploty vody, až na úroveň srovnatelnou s ukončením varianty **k** v 45' (8,20 a 8,21 °C v 60'). Statistický rozdíl mezi variantami nebyl od poloviny experimentu již prokázán. Při pokračování sledování variant **v a o** až do 120, resp.



90 minuty od začátku experimentu byl zjištěn další růst teploty vody (8,31, resp. 8,29 °C). Je zřejmé, že za tímto vývojem stojí primárně zvyšování teploty vzduchu díky slunci, resp. sekundárně i ohříváním vody zahřátým vzduchem z aerace. Tuto zajímavost názorně ukazuje graf č. 9. Replikace varianty, která byla blíže zdroji vzduchu, a tedy i tepla vykazuje statisticky průkazně vyšší teplotu vody (káždě O3, V2 a V3). Příčinou jsou kratší přívodní hadice a tím i menší míra ochlazení vzduchu cestou.

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Nejnížší hodnoty byly zjištěny u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení z 367,53 na 378,40 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **o** a **v**, kde se SPC zvýšila z 367,93 na 391,07 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (**o**), resp. z 367,07 na 391,83 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (**v**). Varianty s aerační vložkou (**v** a **o**) vykazovaly průkazně vyšší hodnoty v čase 15' až 45', ve srovnání s variantou **k**. K dalšímu zvyšování hodnoty SPC docházelo i při pokračování experimentu do 90' 398,80 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (**o**), resp. 120' 398,77 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (**v**). Statisticky průkazný rozdíl však nebyl zjištěn.

Hodnota pH vody v průběhu experimentu klesala u všech variant, resp. u varianty **k** se mezi 0' a 15' nepatrně zvýšila, nicméně poté opět klesala. Statisticky průkazně rozdílné hodnoty pH na začátku experimentu (0', měřeno těsně před nasazením ryb: **o**–7,69; **v**–7,45; **k**–7,18) je možné vysvětlit odlišným časem jejich zahájení (vliv fotosyntézy řas v rybníční vodě) a různou délkou vzduchování vody před začátkem experimentu dané varianty. Na začátku experimentu, za prvních 15', klesalo pH nejvýrazněji (na 7,09) ve variantě **o**. Poněkud mírnější snížení na 7,38 bylo zjištěno ve variantě **v**. Později se intenzita poklesu pH zpomalila a plynule pokračoval až do ukončení experimentu 60', resp. i poté: **o**–6,88 (90') a **v**–6,89 (120'). Za hlavní faktor této dynamické změny pH pozorované u všech variant je možné označit biomasu ryb. Tyto změny je možné vysvětlovat dýcháním ryb, které v lepších podmínkách (více kyslíku) zpomalovaly svůj metabolismus méně, a vylučovaly více CO_2 do okolního prostředí. Poněkud vyšší průměrné hodnoty pH ve variantě **v**, ve srovnání s variantou **k**, zjištěné v čase 15' a 30', je možné zdůvodnit určitou „únavou ryb“ z delšího pobytu ve stísněných podmínkách rybářské sítě (viz. graf 12), kde se koncentrace kyslíku pohyboval v intervalu 0,7 až 1,09 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Po určitém „rozdýchání“ kyslíkového deficitu, jenž se projevilo poklesem pH na úroveň varianty **o** (45'), byl další vývoj pH plně srovnatelný s variantou **o** až do fyzického vylovení ryb z kádí (120').

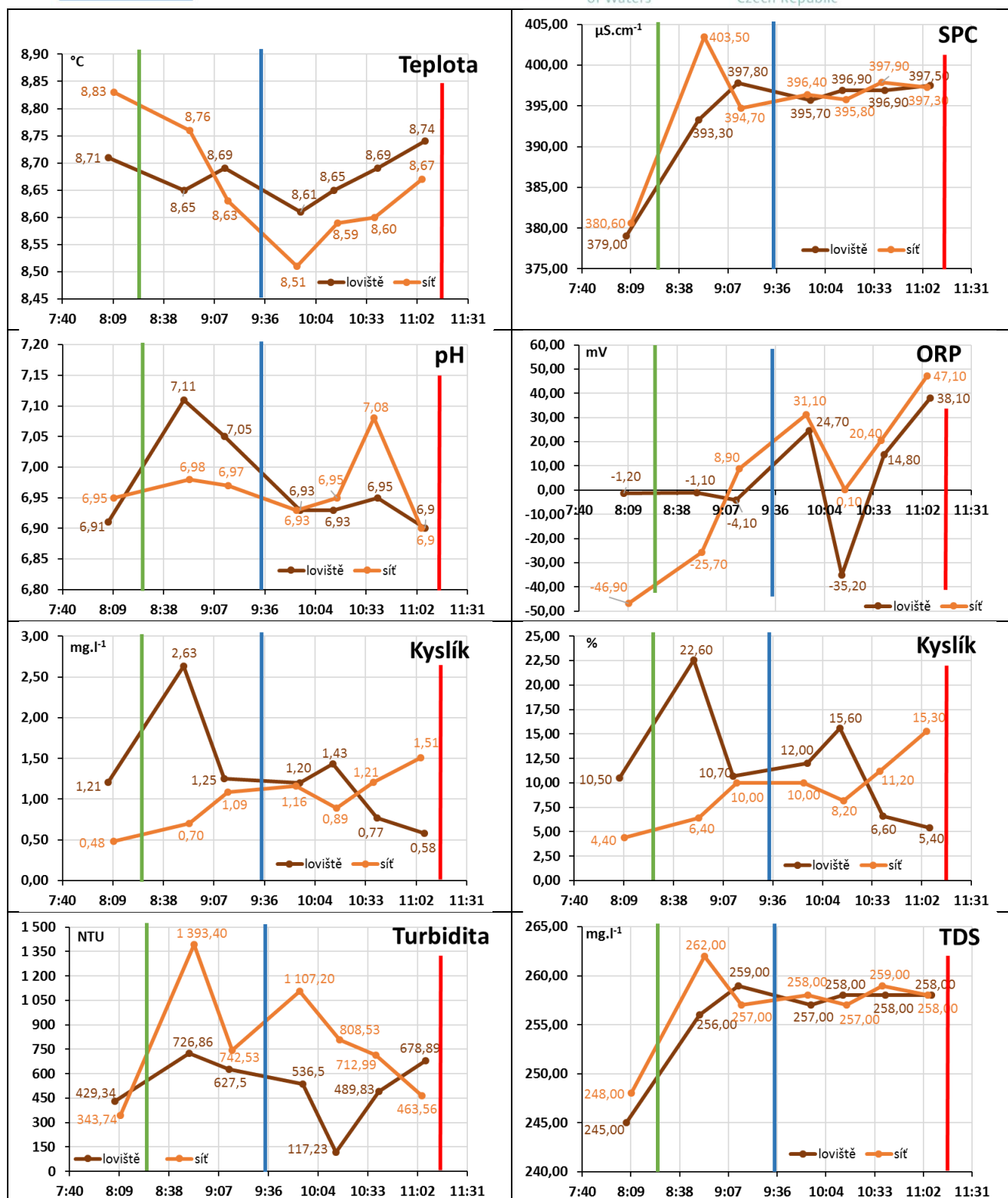
Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni 24,5 mV (**k**); 42,30 mV (**o**) a 58,9 mV (**v**). Tyto rozdíly v čase 0' byly pro varianty **k** a **v** statisticky průkazné. V průběhu prvních 15 minut experimentu došlo u všech variant k určitému zvýšení hodnoty ORP (**k**–50,3 mV; **v**–65,3 mV; **o**–72,67 mV). Tyto rozdíly mezi variantou **k** a variantami **v**, resp. **o** byly statisticky rozdílné. Poté docházelo k postupnému poklesu hodnoty ORP u varianty **v** až do 45 minuty experimentu na 44,9 mV. Naproti tomu varianta **k** vykazovala ve stejném čase naopak zvýšení na 57,5 mV (45'). Od 45' experimentu se ve variantě **v** (konsolidace ryb po kyslíkovém deficitu ze sítě?) hodnota ORP opětovně plynule zvyšovala až na 51,40 mV (60'), resp. 91,40 mV (120'). Oxido redukční potenciál se u varianty **o** po celou dobu sledování stále zvyšoval až do 97,43 mV (60'), resp. 103,53 (90') a byl vždy průkazně vyšší ve srovnání s variantou **k** i **v**.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) bylo na začátku experimentu (těsně před vysazením ryb) poněkud odlišné (statisticky průkazně) u všech variant (**k**–5,42 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; **v**–9,35 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; **o**–11,68 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Kádě byly naplněny vodou z loviště den před výlovem. Příčin tohoto stavu je několik. Prvním faktorem je použitá rybníční voda, která byla sama o sobě



poměrně zakalená do hněda (60–71 NTU v 0'). Tato vody byla tedy méně „kvalitní“ než voda na sádkách v Táboře, jenž jsou napájeny rybníkem Jordán. Nicméně mnohem více odpovídala situaci na standardním výlovu rybníka, se kterou se ryby i rybáři běžně vypořádávají. Kontrolní varianta **k**, měla tedy nasycení vody kyslíkem jen na úrovni 46,33 % (ráno, poměrně brzo po rozednění). Vzduchováním prováděným ve variantě **v**, po dobu přibližně hodiny před nasazením ryb se zvýšilo množství kyslíku v průměru na 79,13 %. S ohledem na zkušenosti z experimentů č. 2 až 4 (jaro 2020), kdy bylo u ryb ve variantě **o** zjištěn oxidativní stres, byla oxygenace zapnuta až bezprostředně před vysazení ryb. Kromě toho byl bedlivě nastaven průtok kyslíku do jednotlivých kádí a úroveň oxygenace byla ještě upravována dle vizuální kontroly skutečného uvolňování bublinek kyslíku. Tato vizuální kontrola a korekce dávky kyslíku vedla k určitému odchýlení hodnot na průtokoměru. Správnost prováděných korekcí byla kromě vizuální kontroly intenzity bublání O₂ (i za cenu krátkého vypnutí vzduchování) potvrzována následným měřením oxymetrem. Díky těmto opatřením bylo docíleno úvodní saturace vody kyslíkem v průměru 98,63 %. Tyto poněkud odlišné podmínky kyslíkového režimu jednotlivých variant však poměrně dobře demonstrují možnosti testované inovace ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách. Po vysazení ryb do kádí došlo u všech variant v čase 15' k poklesu množství kyslíku ve vodě na: 2,6 mg.l⁻¹ (**k**); 5,04 mg.l⁻¹ (**v**) a 6,68 mg.l⁻¹ (**o**). Přičemž ve variantě **k**, byl zjištěn pokles O₂ statisticky významný. V polovině experimentu (30') byl zjištěn pokračující pokles množství kyslíku ve vodě na 1,32 mg.l⁻¹ (**k**) a 2,58 mg.l⁻¹ (**v**), což bylo průkazně méně než ve variantě **o** (5,67 mg.l⁻¹). Při ukončení varianty **k** (45') byla koncentrace kyslíku jen 0,64 mg.l⁻¹, resp. nasycení 5,67 %. Ve variantě **v** však došlo jen k mírnému snížení na 2,16 mg.l⁻¹, resp. 18,83 %. Tyto hodnoty však byly opět průkazně nižší než u varianty **o**, kde došlo naopak ke zvýšení na 6,96 mg.l⁻¹, resp. 59,93 % (díky zvýšení dávky O₂ do kádí). Při pokračování sledování (60' až 120') již k výraznějšímu poklesu množství kyslíku ve variantě **v** nedocházelo, ale jeho množství se udržovalo na obdobné úrovni s mírným poklesem z 1,87 na 1,52 mg.l⁻¹, resp. 15,97 na 13,42 %. Naproti tomu se koncentrace kyslíku ve variantě **o** postupně zvyšovala z 8,36 mg.l⁻¹ (60') na 9,61 mg.l⁻¹ (90'), resp. 71,47 na 82,33 %. Při neplánovaném prodloužení expozice ryb v kádích s aeračními vložkami na 120 a 90 minut (z důvodu čekání na dopravu) nebyly pozorovány žádné problémy s troubením ryb, ani u varianty **v**. Ryby se chovaly poměrně klidně, ale v 60' (**o**), resp. 75' (**v**) byl pozorován určitý neklid ryb a jejich mírné zvedání (ve stále zakalené vodě to bylo hůře patrné). Po experimentu byl zjištěn jen minimální úhyn ryb 2 ks (ztráty 0,343 %) pocházející z varianty **o**, což je možné vysvětlit zvýšenou celkovou zátěží těchto ryb z průběhu výlovu (nejdelší pobyt v síti a vystavení kyslíkovému deficitu, viz. graf 12), nebo prostým – náhodným poškozením při manipulaci (výlov, doprava na sádky). Rozdíly mezi variantami **v** a **o** byly po celou dobu od 30 minut sledování statisticky průkazné.

Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazoval na začátku experimentu u všech variant obdobných hodnot 59,38 až 71,17 NTU. Nicméně u varianty **k** byl pozorován poněkud rozkolísaný průběh hodnot (60,49 až 125,64 NTU; způsoben různou aktivitou ryb v čase), průkazně vyšších ve srovnání s variantami **v** a **o**. V průběhu experimentu však docházelo u obou variant s aerační vložkou k plynulému poklesu turbidity na hodnoty 20,13 NTU (**o**–90'), resp. 18,76 NTU (**v**–120'). Z těchto dat je dobře patrný pozitivní vliv aeračních vložek na snižování zákalu vody v čase v reálných podmínkách panujících při výlovu rybníka. Dvojitě dno a specifické proudění vody umožňuje postupnou sedimentaci nerozpuštěných látek ve vodě. Tím dochází rovněž k sekundárnímu zlepšování kvality vody a omezení možného abrazivního poškození, zejména žaberního epitelu, krátkodobě umístěných ryb.



Graf 12: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody v lovišti a síti s rybami na rybníku Stará Komora při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 (kapr násada). Svisle barevné čáry označují začátek jednotlivých variant experimentu: zelená – kádě, modrá – kádě s aerační vložkou a červená kádě s aerační vložka s oxygenací.

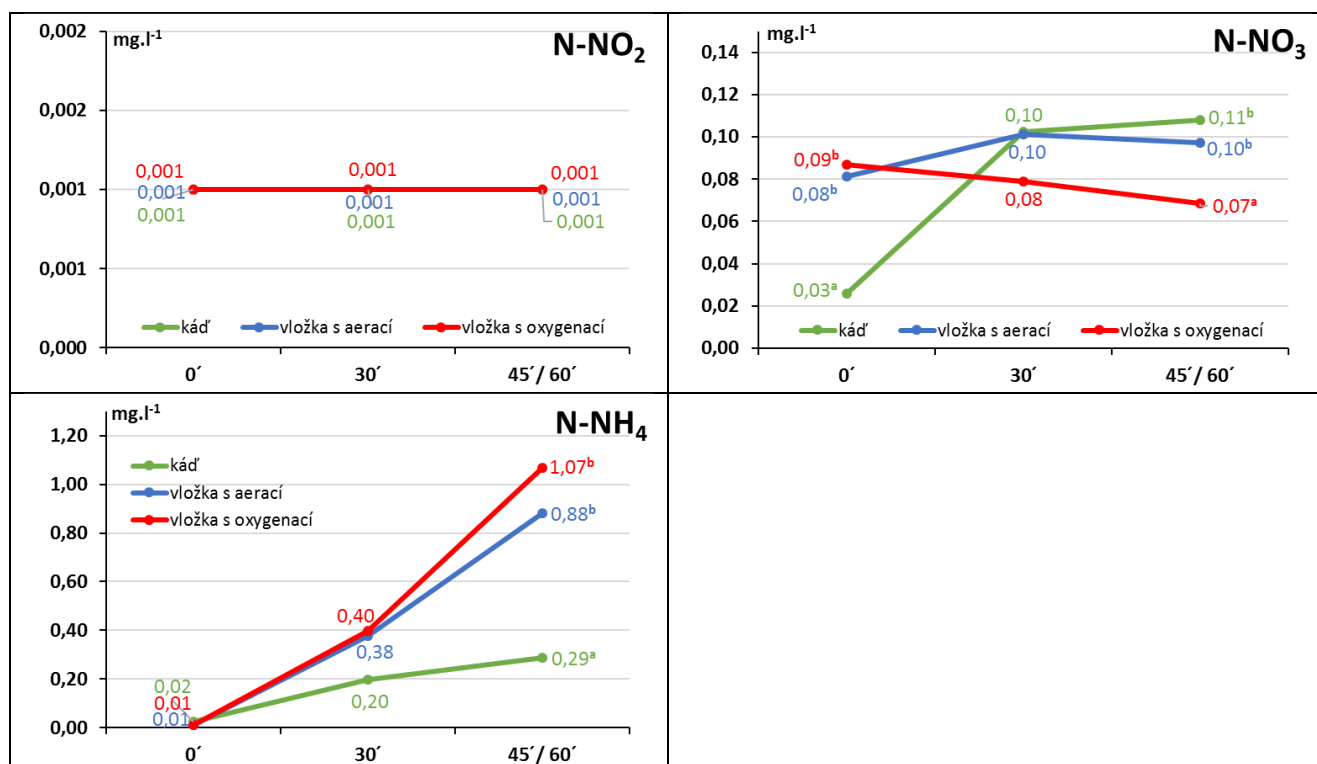


Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se na začátku experimentu pohybovala na velmi blízké úrovni 238,67 mg.l⁻¹ (**v**) až 239,33 mg.l⁻¹ (**o**). V průběhu experimentu docházelo k plynulému zvyšování TDS u všech variant. Průkazně nižší hodnoty byly pozorovány od 15 minuty sledování u varianty **k**. Tato varianta končila v 45' na hodnotě 245,67 mg.l⁻¹, zatímco u variant **o**, resp. **v** bylo zjištěno ve stejném čase průkazně vyšší množství 251,67 mg.l⁻¹, resp. 252,33 mg.l⁻¹. V závěru sledování dosahovalo TDS ve variantě **v**– 259,00 mg.l⁻¹ (120') a variantě **o**–259,67 mg.l⁻¹ (90').

4.5. 2 Laboratorní analýza vody

Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů N-NO₂, N-NO₃ a N-NH₄, jsou uvedeny v grafu 13. Koncentrace dusitanového dusíku se v průběhu celého experimentu neměnila a byla dokonce u všech variant stejná 0,001 mg.l⁻¹.

Koncentrace dusičnanového dusíku byla na začátku experimentu u variant s aerační vložkou průkazně vyšší (**o**–0,09; **v**–0,08) ve srovnání s variantou **k** (0,03 mg.l⁻¹). V průběhu experimentu (30') však množství N-NO₃ ve variantě **k** vzrostlo na 0,10 mg.l⁻¹, zatímco u varianty **o** pokleslo na 0,08 mg.l⁻¹. Ve variantě **v** byl zjištěn mírný nárůst na 0,10 mg.l⁻¹ (30'). Při ukončení experimentu (45') bylo u varianty **k** zjištěno další mírné zvýšení koncentrace N-NO₃ na 0,11 mg.l⁻¹, zatímco u varianty **v** (60') došlo k mírném poklesu. Varianta **o** (60') vykázala opětovný mírný pokles na 0,07 mg.l⁻¹. Rozdíl mezi těmito variantami byl statisticky průkazný.



Graf 13: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 11. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).

Na začátku sledování dosahoval koncentrace amoniakálního dusíku všech variant prakticky stejné velmi nízké hodnoty 0,01 až 0,02 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu došlo k postupnému



zvýšení hodnoty N-NH_4 , a to u všech variant. Nejvyšší koncentrace ($1,07 \text{ mg.l}^{-1}$) byla zjištěna na konci experimentu (60') u varianty **o** a **v** ($0,88 \text{ mg.l}^{-1}$), zatímco nejnižší hodnota $0,29 \text{ mg.l}^{-1}$ byla naměřena při ukončení varianty **k** (potvrzen statistický rozdíl). Zvýšení koncentrace N-NH_4 v průběhu experimentu je možné vysvětlovat jejich exkrecí rybami. Lepší kyslíkové poměry varianty **v** a **o** umožňovaly rybám udržet si vyšší metabolickou aktivitu.

4.5.3 Analýza krve

Výsledky analýzy krve ryb v rámci experimentu č. 5 jsou uvedeny v tabulce č. 11. U varianty **k** došlo vůči začátku experimentu (**s**) k průkaznému zvýšení GLU, pH, a průkaznému poklesu pCO_2 , tCO_2 , sO_2 , K^+ . Bez průkazné změny vůči **s** byly hodnoty LACT, HCO_3^- , AnGAP, tCO_2 , pO_2 , tHb, Na^+ , Cl^- . Obdobné výsledky byly zjištěny u varianty **v**, kde došlo k průkaznému zvýšení (ve srovnání s **s**) GLU, LACT, pH, AnGAP, pO_2 , sO_2 , naopak průkazný pokles byl zjištěn pro pCO_2 a K^+ . Bez průkazné změny vůči **s** zůstaly u varianty **v**: HCO_3^- , AnGAP, tHb, Na^+ , Cl^- . Ve variantě **o**, byl průkazný rozdíl vůči **s** zjištěn – pokles: pH, pCO_2 , K^+ , resp. zvýšení: GLU, LACT, pO_2 a sO_2 . Zbývající parametry byly na obdobné úrovni jako **s** (HCO_3^- , AnGAP, tCO_2 , tHb, Na^+).

Tab. 11: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p=0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>plazma</i>					
GLU	mmol/l	5,347 $\pm$ 1,012 ^{k,v,o}	7,666 $\pm$ 1,089 ^{s,v,o}	11,849 $\pm$ 1,056 ^{s,k}	12,174 $\pm$ 2,966 ^{s,k}
LACT	mmol/l	11,353 $\pm$ 2,61 ^{v,o}	11,621 $\pm$ 2,685 ^{v,o}	16,331 $\pm$ 1,259 ^{s,k}	14,871 $\pm$ 2,955 ^{s,k}
<i>krev</i>					
pH		7,114 $\pm$ 0,056 ^{k,v,o}	7,234 $\pm$ 0,023 ^s	7,239 $\pm$ 7,209 ^s	7,209 $\pm$ 0,079 ^s
pCO_2	mmHg	41,143 $\pm$ 2,100 ^{k,v,o}	31,143 $\pm$ 2,100 ^{s,o}	28,571 $\pm$ 1,917 ^s	26,571 $\pm$ 3,064 ^{s,k}
HCO_3^-	mmol/l	12,343 $\pm$ 1,490	11,743 $\pm$ 0,873	11,600 $\pm$ 3,290	10,071 $\pm$ 2,783
AnGAP	mmol/l	20,357 $\pm$ 1,001	19,486 $\pm$ 0,640	20,171 $\pm$ 2,593	23,114 $\pm$ 3,100
tCO_2	mmol/l	13,600 $\pm$ 1,473	12,714 $\pm$ 0,892	12,500 $\pm$ 3,330	10,914 $\pm$ 2,868
pO_2	mmHg	16,286 $\pm$ 3,807 ^{v,o}	15,000 $\pm$ 2,138 ^{v,o}	33,286 $\pm$ 13,905 ^{s,k}	32,714 $\pm$ 10,539 ^{s,k}
tHb	g/dl	10,686 $\pm$ 0,792	11,629 $\pm$ 1,578	10,529 $\pm$ 0,969	10,571 $\pm$ 1,057
sO_2	%	65,143 $\pm$ 2,531 ^{k,v,o}	<60 ^{s,v,o}	74,429 $\pm$ 2,195 ^{s,k,o}	85,429 $\pm$ 2,718 ^{s,k,v}
Na^+	mmol/l	139,286 $\pm$ 1,829	139,857 $\pm$ 0,833	140,714 $\pm$ 2,250	137,857 $\pm$ 3,314
K^+	mmol/l	4,214 $\pm$ 0,416 ^{k,v,o}	2,443 $\pm$ 0,484 ^{s,v,o}	3,014 $\pm$ 0,445 ^{s,k}	2,643 $\pm$ 0,462 ^s
Cl^-	mmol/l	110,714 $\pm$ 1,278	111,143 $\pm$ 1,457 ^o	111,857 $\pm$ 1,355 ^o	109,286 $\pm$ 1,829 ^{k,v}

Poznámka: GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO_2 – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO_3^- – hydrogenuhličitán; AnGAP – anionová mezera; tCO_2 – celkový CO_2 ; pO_2 – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO_2 – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na^+ – sodíkový iont; K^+ – draslíkový iont; Cl^- – chloridový iont

Za důležité je v tomto experimentu možné označit, že některá data (GLU, LACT, pCO_2) naměřená u varianty **v**, resp. **o** zrcadlila především stres ryb spojený s delším pobytem v rybářské síti než skutečný vliv experimentu dané varianty. Tomu nasvědčuje i zvýšení pO_2 a sO_2 o +104,39 % a +14,25 % (varianta **v**), resp. +100,88 % a +31,14 % (varianta **o**). Oba typy aerační vložky zlepšily rybám kyslíkový režim.



4.5.4 Analýza tkání

Výsledky analýzy tkání ryb v rámci experimentu č. 5 jsou uvedeny v tabulce č. 12. U varianty **k** došlo k průkaznému zvýšení (vůči **s**, ale z větší části i vůči **v** a **o**) u žaberní tkáně: ROS, TBARS, SOD, CAT, GR a GSH; u svaloviny: ROS, SOD a CAT; mozkové tkáně: ROS, TBARS, SOD, CAT, GR a GSH. Ostatní parametry (GST – žábry; TBARS, GR, GSH, GST – sval; GST – mozek) byly na srovnatelné úrovni jako **s**. Ve variantě **v** došlo k průkaznému rozdílu vůči **s** (zvýšení) u žaberní tkáně: ROS, CAT a GST; svaloviny – ROS; resp. u mozkové tkáně: TBARS. Ostatní parametry varianty **v** byly na srovnatelné úrovni jako **s**, resp. **o**. U varianty **o** došlo k průkaznému snížení (vůči **s**) jen u GSH – žábry a GST – mozek. Statisticky průkazná odlišnost varianty **o** byla zjištěna především vůči **k**.

Z těchto dat je možné vyvodit, že ve variantě **k** došlo díky nedostatku kyslíku k dušení ryb, jenž vyvolalo stresovou reakci. Naproti tomu varianty s aerační vložkou (**v** a **o**) ukázaly v převaze příznivější úroveň sledovaných bioindikátorů.

Tab. 12: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kádř (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>žábry</i>					
ROS	% kontroly	99,486 $\pm$ 0,666 ^{k,v}	114,586 $\pm$ 4,329 ^{s,v,o}	102,357 $\pm$ 0,883 ^{s,k}	100,414 $\pm$ 0,702 ^k
TBARS	nmol/mg protein	0,266 $\pm$ 0,033 ^k	0,385 $\pm$ 0,040 ^{s,v,o}	0,286 $\pm$ 0,032 ^k	0,271 $\pm$ 0,019 ^k
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,240 $\pm$ 0,033 ^k	0,465 $\pm$ 0,064 ^{s,v,o}	0,259 $\pm$ 0,032 ^k	0,221 $\pm$ 0,015 ^k
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,195 $\pm$ 0,029 ^{k,v}	0,356 $\pm$ 0,052 ^{s,v,o}	0,249 $\pm$ 0,044 ^{s,k}	0,217 $\pm$ 0,030 ^k
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,409 $\pm$ 0,051 ^k	0,697 $\pm$ 0,110 ^{s,v,o}	0,440 $\pm$ 0,143 ^k	0,342 $\pm$ 0,079 ^k
GSH	nmol GSH/mg protein	2,985 $\pm$ 0,359 ^{k,o}	3,630 $\pm$ 0,450 ^{s,v,o}	2,642 $\pm$ 0,289 ^k	2,528 $\pm$ 0,257 ^{s,k}
GST	nmol/min/mg protein	1,24 $\pm$ 0,096 ^v	1,364 $\pm$ 0,085 ^o	1,371 $\pm$ 0,140 ^{s,o}	1,143 $\pm$ 0,082 ^{k,v}
<i>sval</i>					
ROS	% kontroly	100,386 $\pm$ 1,138 ^{k,v}	104,214 $\pm$ 1,272 ^{s,v,o}	101,957 $\pm$ 1,177 ^{s,k}	100,914 $\pm$ 0,409 ^k
TBARS	nmol/mg protein	0,187 $\pm$ 0,039	0,181 $\pm$ 0,065	0,171 $\pm$ 0,042	0,144 $\pm$ 0,031
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,242 $\pm$ 0,031 ^k	0,368 $\pm$ 0,094 ^{s,v,o}	0,249 $\pm$ 0,051 ^k	0,220 $\pm$ 0,013 ^k
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,022 $\pm$ 0,005 ^k	0,039 $\pm$ 0,005 ^{s,v,o}	0,025 $\pm$ 0,005 ^k	0,023 $\pm$ 0,007 ^k
GR	nmol NADPH/min/mg protein	1,250 $\pm$ 0,083	1,276 $\pm$ 0,128	1,247 $\pm$ 0,068	1,206 $\pm$ 0,096
GSH	nmol GSH/mg protein	2,431 $\pm$ 0,246	2,288 $\pm$ 0,191	2,216 $\pm$ 0,122	2,204 $\pm$ 0,205
GST	nmol/min/mg protein	1,091 $\pm$ 0,098	1,022 $\pm$ 0,072	1,065 $\pm$ 0,085	1,039 $\pm$ 0,037
<i>mozek</i>					
ROS	% kontroly	100,400 $\pm$ 1,134 ^k	101,886 $\pm$ 0,574 ^s	100,986 $\pm$ 1,189	101,100 $\pm$ 0,626
TBARS	nmol/mg protein	1,015 $\pm$ 0,023 ^{k,v}	1,285 $\pm$ 0,044 ^{s,v,o}	1,093 $\pm$ 0,076 ^{s,k}	1,065 $\pm$ 0,045 ^k
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,217 $\pm$ 0,048 ^k	0,355 $\pm$ 0,045 ^{s,v,o}	0,223 $\pm$ 0,013 ^k	0,219 $\pm$ 0,011 ^k
CAT	μ mol H ₂ O ₂ /min/mg protein	0,230 $\pm$ 0,045 ^k	0,330 $\pm$ 0,083 ^{s,v,o}	0,213 $\pm$ 0,021 ^k	0,196 $\pm$ 0,039 ^k
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,261 $\pm$ 0,039 ^k	0,382 $\pm$ 0,069 ^{s,v,o}	0,262 $\pm$ 0,048 ^k	0,218 $\pm$ 0,015 ^k
GSH	nmol GSH/mg protein	2,871 $\pm$ 0,350 ^k	3,926 $\pm$ 0,275 ^{s,v,o}	2,908 $\pm$ 0,371 ^k	2,827 $\pm$ 0,556 ^k
GST	nmol/min/mg protein	2,827 $\pm$ 0,303 ^o	2,498 $\pm$ 0,372	2,552 $\pm$ 0,320	2,383 $\pm$ 0,308 ^s

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBARS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukováný glutathion; GST – glutathion S-transferáza



4.5.5 Dílčí zhodnocení experimentu

Pátý experiment probíhal na rybníku s prostorným kádištěm. Kvalita vody a ryb odpovídala skutečným provozním podmínkám, což bylo velmi důležité pro praktické ověření fungování vložek v průběhu reálného výlovu rybníka, jakož i zachycení změn kvality vody a sledovaných biomarkerů. Byla to dobrá příležitost, jak demonstrovat funkčnost aeračních vložek na welfare ryb. Životní podmínky ryb v lovišti, resp. rybářské síti v průběhu výlovu rybníka byly náročné (zvýšený zákal vody, nedostatek kyslíku).

Po zkušenostech z jarních experimentů č. 2 až 4, kde byl zjištěn výrazný oxidativní stres u tkání ryb z důvodu přesycení vody kyslíkem, došlo k technické úpravě rozvodů plynů (vzduchu a kyslíku) k aeračním vložkám (viz. metodika). Zásadní změnou bylo umístění regulačních průtokoměrů O_2 do chráněného boxu, umístěného přímo na kyslíkové lahvi. Byl využit výkonnější zdroj vzduchu, a změny rozvodné hadice s možností individuální regulace.

Díky výše uvedeným změnám se podařilo u varianty **v** docílit vyššího nasycení vody kyslíkem ve srovnání s **k**, i když tento rozdíl nebyl na konci experimentu již průkazně vyšší. A to přesto, že v kádích bylo nasazeno vyšší množství ryb (100 kg/kád') ve srovnání s jarem 2020. Naproti tomu se nám však nedařilo zvyšovat množství kyslíku ve variantě **o**. Dávkování kyslíku bylo zahájeno až těsně před vysazením ryb. Seřízení jeho množství se však ukázalo jako problematické. Od průtokoměrů umístěných v ochranném „domečku“ vedli různě dlouhé hadice (dané vzdálenosti kádě). Tato skutečnost (větší délka = ztráta tlaku, vyšší odpor stěn hadice), společně s možnou netěsností spojů (nízká teplota, vyšší tvrdost plastu a gumy) pravděpodobně způsobila, že na průtokoměrech muselo být dávkování kyslíku nastaveno do jednotlivých kádí na rozdílné úrovni. Při stejném nastavení bylo skutečné množství kyslíku bublajícího z oxygenačních hadic vizuálně velmi odlišné (žádné bubliny až velké bubliny). Nastavení dávky kyslíku bylo proto prováděno primárně dle vizuální kontroly a srovnatelnosti velikosti a množství bublinek mezi jednotlivými opakováními. Při nastavování oxygenace před nasazením ryb bylo vypnuto vzduchování z důvodu lepších možností pozorování. Pokles množství kyslíku v průběhu první poloviny experimentu varianty **o**, byl kompenzován snahou o zvýšení jeho dávky. Zde jsme však byli limitováni dvěma fakty. První představoval obavu z nechtěného přesycení vody O_2 , obdobně, jako při experimentu na jaře 2020, které by již nešlo zvrátit. Druhý problém představuje skutečnost, že při nadměrné dodávce kyslíku do vody, dochází ke spojování jemných bublinek plynu do větších. Ty směřují k vodní hladině rychleji, a jejich plocha k objemu plynu je menší. Díky tomu je sycení vody O_2 ekonomicky neefektivní.

Na základě těchto zkušeností můžeme doporučit, že při využití aeračních vložek s oxygenací je nutné zahájit dávkování O_2 , až při dostatečném zatížení kádě biomasou ryb, nikoli ještě před vysazením ryb (do té doby pouze vzduchovat). I v průběhu výlovu rybníka je nutné průběžně sledovat a upravovat nastavení množství dávkovaného O_2 do kádí a měřit skutečné nasycení vody v kádích, aby nedošlo k přesycení vody kyslíkem (problematické může být nad 150 %). V průběhu výlovu totiž může docházet k výrazným změnám oběma směry (zvýšení i snížení), např. v důsledku naložení obsahu kádě na auto, nebo doplnění ryb z jiné kádě. Při kontrole však nestačí jen prostá úprava množství O_2 na průtokoměru, ale je nutné provádět i vizuální kontrolu velikosti a množství bublinek O_2 přímo v kádích, s ohledem na hospodárnost spotřeby kyslíku a zamezení přesycení vody. Doporučení hodné je i průběžné kontrolní měření množství kyslíku oxymetrem přímo v jednotlivých kádích. Dávkování kyslíku do kádí je nutné nastavit a ověřit si jeho funkčnost na začátku výlovu, přičemž k zahájení vlastní oxygenace přistoupit, až po umístění dostatečného množství ryb (schopného spotřebovávat dodaný kyslík). Do té doby je vhodné v kádích provádět jenom vzduchování.



Zjištěné vyšší hodnoty stresových ukazatelů krve (GLU, LACT) u variant **v** a **o** ukazují spíše stresový stav ryb po delším pobytu v rybářské síti, než vliv aeračních vložek (viz. pO_2 , sO_2). V obecné rovině můžeme konstatovat, že hodnoty sledovaných biomarkerů stresu ukazují na průkazně lepší hodnoty u varianty **o**, ale taky **v** ve srovnání s **k**.

4.6. Šestý experiment 3. 12. 2020 – tržní kapr

Experiment proběhl na sádkách v Táboře na tržním kapru ($K_4 - 2,32 \text{ kg.ks}^{-1}$). Cílem experimentu bylo potvrdit účinnost aerační vložky pro rybářskou kád', ke zlepšení welfare ryb v provozních podmínkách, s ohledem na provedené technické úpravy u rozvodů plynů. Do rybářské kádě bylo nasazeno 100 kg ryb ($181,8 \text{ kg.m}^{-3}$). Při experimentu se kladl velký důraz na předejití nadměrným dávkám kyslíku (varianta **o**), jenž bylo zjištěno ve formě oxidativního stresu při experimentech č. 2 až 4 na jaře 2020.

4.6.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody

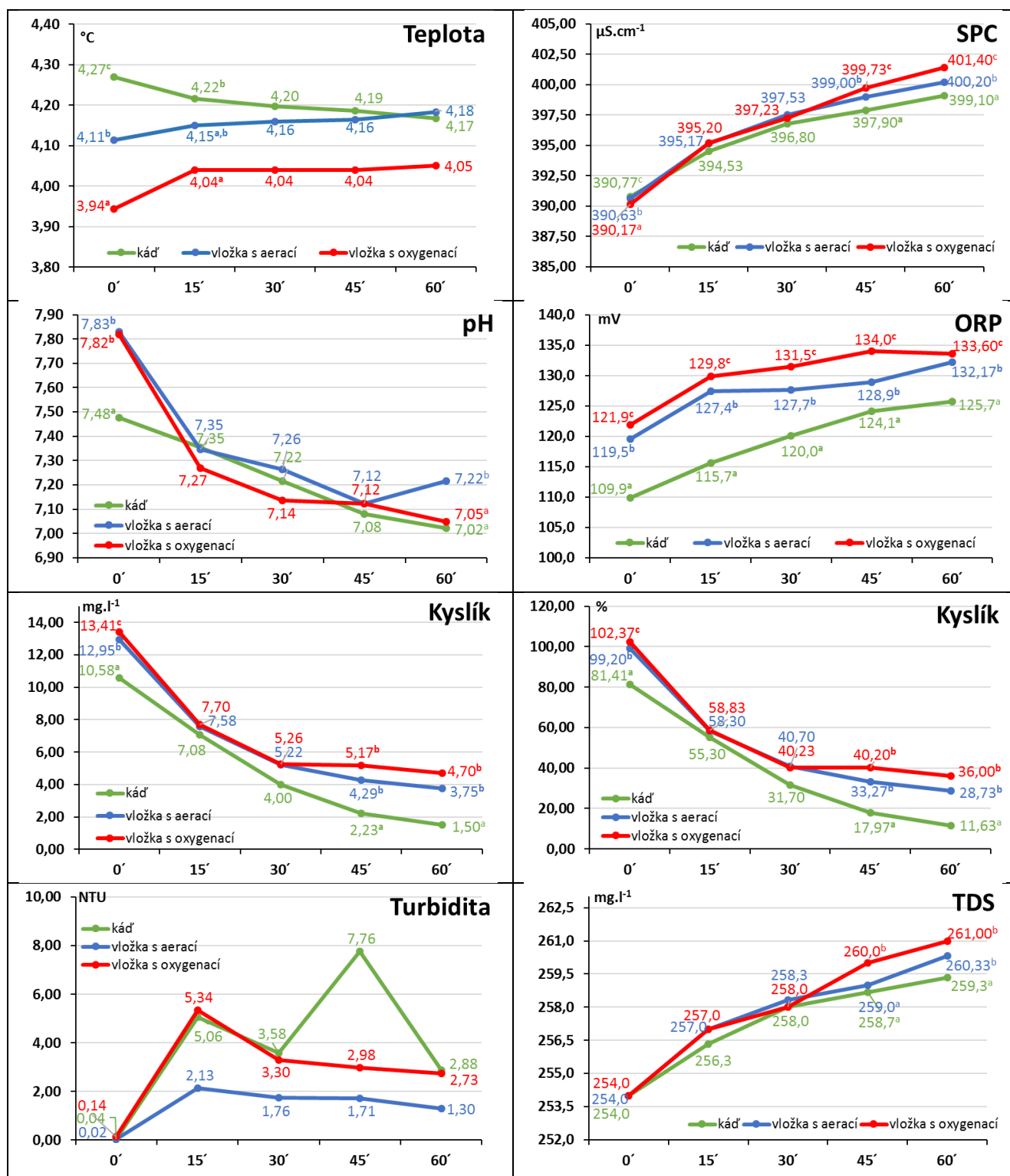
Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentu č. 6 je uvedena v grafu 14. V průběhu experimentu docházelo k velmi mírným změnám teploty vody v kádích, které byly způsobeny rozdílným časem v průběhu dne, kdy byla ta, která varianta prováděna. Na začátku experimentu byla teplota vody u varianty **k** $-4,27^\circ\text{C}$; **v** $-4,11^\circ\text{C}$ a **o** $-3,94^\circ\text{C}$. Mezi variantami byl proto v časech 0' a 15' zjištěn statistický rozdíl, který se postupně s přibližováním teplot vody vytratil. V závěru experimentu (60') byla teplota vody u varianty **k** nižší ve srovnání s 0' ($4,17^\circ\text{C}$), zatímco u variant **v** a **o** naopak o něco vyšší ($4,18$ a $4,05^\circ\text{C}$). Zvyšování teploty vody variant s aerační vložkou (**v** a **o**) mohlo být částečně ovlivněno rovněž vzduchováním, které žene do vody mírně ohřátý vzduch (kompresorem).

Vodivost vody vyjádřená jako SPC ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u varianty **k**, kde došlo ke zvýšení z $390,77$ na $399,10 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Naopak nejvyšší hodnoty jsme naměřili u varianty **o**, kde se SPC zvýšila z $390,17$ na $401,40 \mu\text{S.cm}^{-1}$, což bylo ve druhé polovině experimentu průkazně více, než u varianty **v** (z $390,63$ na $400,20 \mu\text{S.cm}^{-1}$).

Hodnota pH vody v průběhu experimentu klesala u všech variant. Na začátku experimentu (0') byla zjištěna průkazně nižší hodnota pH ve variantě **k** ($7,48$) ve srovnání s variantami **v** ($7,83$) a **o** ($7,82$). Důvodem tohoto stavu může být skutečnost, že varianta **k** byla zahájena jako první (ráno v 8:40) a díky tomu byla ve vodě vyšší zásoba CO_2 z nočního dýchání primárních producentů. Strmost poklesu hodnoty pH ve variantě **k** byla v 15' poněkud méně výrazná ($7,35$) ve srovnání s variantami **v** a **o** ($7,35$ a $7,27$). Pokles hodnoty pH pokračoval až do konce sledování, resp. u varianty **v** byl zjištěno v čase 60' mírné zvýšení pH ($7,22$) ve srovnání s 45' ($7,12$). Tato hodnota byla průkazně vyšší, ve srovnání s variantami **o** ($7,05$) a **k** ($7,02$).

Oxido redukční potenciál – ORP (mV) byl na začátku experimentu na úrovni $109,9 \text{ mV}$ (**k**), $119,5 \text{ mV}$ (**v**) a $121,9 \text{ mV}$ (**o**). Mezi jednotlivými variantami byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. V průběhu experimentu došlo k postupnému zvyšování hodnoty ORP u všech variant, přičemž se mezi nimi udržoval průkazný rozdíl. V závěru experimentu dosahovala hodnota ORP: **k** $-125,7 \text{ mV}$; **v** $-132,17 \text{ mV}$; **o** $-133,60 \text{ mV}$.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg.l^{-1}) bylo na začátku experimentu průkazně rozdílné, i když poměrně podobné: **k** $-10,58 \text{ mg.l}^{-1}$ ($81,41\%$); **v** $-12,95 \text{ mg.l}^{-1}$ ($99,20\%$); **o** $-13,41 \text{ mg.l}^{-1}$ ($102,37\%$). Po vysazení ryb (15') byl zjištěn poměrně výraznější pokles množství kyslíku ve vodě, a to ve všech variantách obdobným způsobem: **k** $-7,08 \text{ mg.l}^{-1}$ ($55,30\%$);



Graf 14: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, $p = 0,05$).

v –7,58 mg.l⁻¹ (58,30 %); o –7,70 mg.l⁻¹ (58,83 %). V polovině experimentu (30') byla koncentrace kyslíku u všech variant ještě nižší (k –4,00 a v –5,22 mg.l⁻¹) a to včetně varianty o (5,26 mg.l⁻¹). Tento poněkud překvapivý vývoj se nedařilo výrazněji zvrátit ani zvýšením dávek



kyslíku do vody. Při zvýšení dávky kyslíku nad určitou mez se začali tvořit větší bublinky plynného O_2 , které rychle unikaly k hladině, a tak bylo jejich rozpuštění ve vodě málo efektivní. Naměřená nižší koncentrace kyslíku ve vodě u varianty **v** a **o**, nebyla daná nedostatečným doplňováním, jak by se dalo očekávat, ale zvýšenou spotřebou rybami. V průběhu experimentu bylo totiž pozorováno v čisté vodě, jenž byla v kádích, rozdílné chování ryb. Ryby z varianty **k**, po vysazení do kádě ležely u dna v klidu, přičemž k jejich zvednutí k hladině došlo až v druhé polovině experimentu, kdy byla koncentrace kyslíku v kádi nižší a kapři přistoupili k nouzovému dýchání. Jejich pohyb však byl v tomto případě velmi pozvolný a minimalistický. Naproti tomu u kaprů umístěných do kádí s aerační vložkou (obě varianty) byl pozorován ve druhé polovině experimentu určitý neklid. Vyznačoval se aktivním pohybem ryb v prostoru kádě, zejména u varianty **o**. Ryby v kádi plavaly takovým způsobem, že ve variantě **o**, bylo ve dvou kádích pozorováno kruhové roztočení vody, včetně náznaku víru vody uprostřed. Část vody z kádí přitom přepadala přes okraj. Zvýšená pohybová aktivita ryb je možná jen při dostatku kyslíku a jeho spotřebě tělem. Náznak podobného chování ryb byl pozorován i v předchozím experimentu č. 5 (kalná rybníční voda neumožňovala lepší sledování). Proto byla v závěru experimentu naměřena koncentrace kyslíku na úrovni: **k**–1,50 mg.l⁻¹ (11,63 %); **v**–3,75 mg.l⁻¹ (28,73 %); **o**–7,70 mg.l⁻¹ (36,00 %). Statisticky průkazně nižší byla úroveň kyslíku ve variantě **k**, zatímco rozdíl mezi **v** a **o**, nebyl potvrzen.

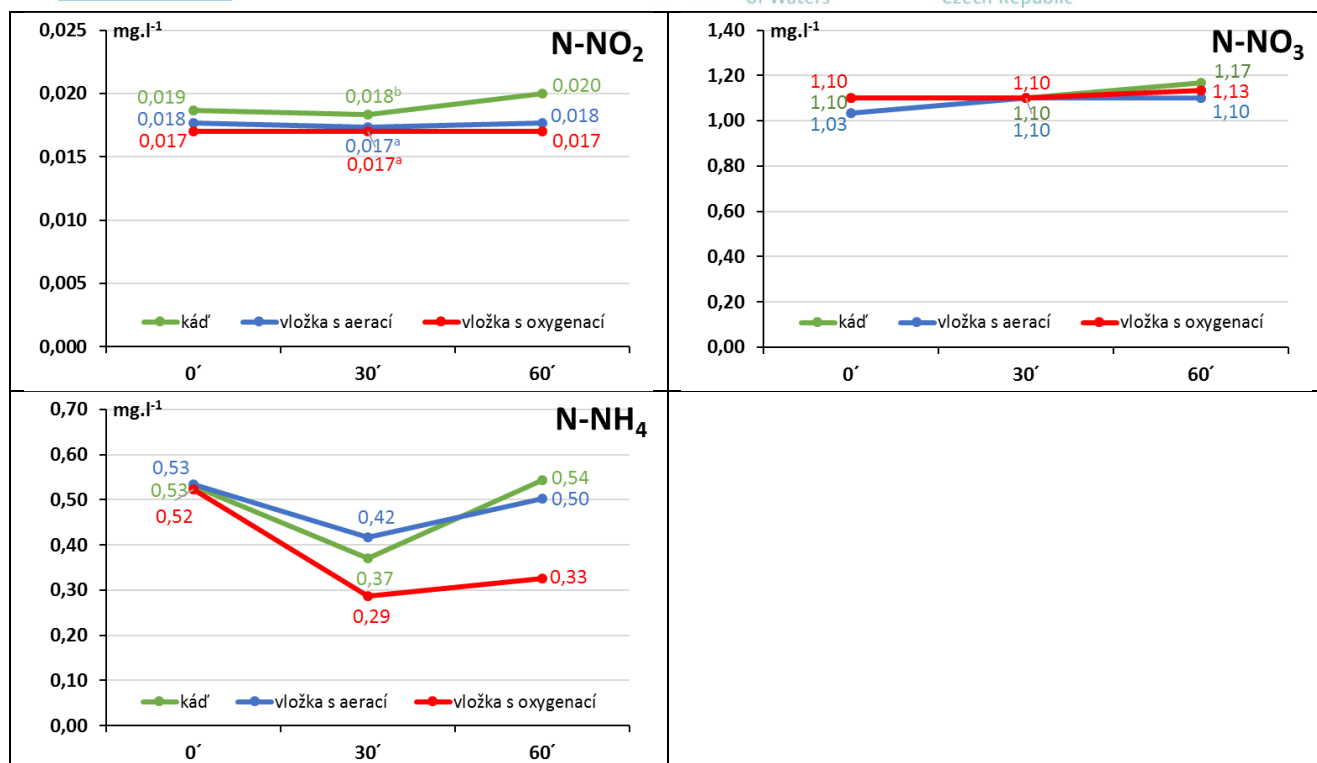
Zákal vody vykazoval na začátku experimentu hodnotu 0,02 až 0,14 NTU. V důsledku vysazení ryb a zatížené vody znečištěním došlo v 15' ke zvýšení turbidity na 2,13 NTU (**v**), resp. **k**–5,06 NTU a **o**–5,34 NTU. Poté docházelo k postupnému a plynulému poklesu zákalu s výjimkou 45' u varianty **k** (zvýšení na 7,76 NTU). Na konci experimentu po 60 minutách již činily hodnoty 1,30 NTU (**v**), resp. 2,73 NTU (**o**) a 2,88 NTU (**k**). Mezi jednotlivými variantami nebyl zjištěn v průběhu sledování statisticky průkazný rozdíl.

Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) na začátku experimentu dosahovala u všech variant shodně 254,0 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu docházelo k postupnému zvyšování hodnoty TDS. Průkazně vyšší hodnoty byly v druhé polovině sledování (45') u varianty **o**. V závěru experimentu dosahovalo TDS 261,0 mg.l⁻¹ (**o**), zatímco varianta **v** měla 260,33 mg.l⁻¹ a varianta **k** 259,3 mg.l⁻¹.

4.6. 2 Laboratorní analýza vody

Výsledky laboratorně analyzovaných parametrů $N-NO_2$, $N-NO_3$ a $N-NH_4$, jsou uvedeny v grafu 15. Koncentrace dusitanového dusíku se v průběhu celého experimentu prakticky neměnila. Zatímco varianta **o** měla po celou dobu sledování koncentraci $N-NO_2$ 0,017 mg.l⁻¹, varianta **v** dosahovala 0,018 mg.l⁻¹. Nejvyšší hodnota (0,019 mg.l⁻¹) byla zjištěna na začátku sledování ve variantě **k**. V průběhu experimentu došlo u této varianty k mírnému zvýšení koncentrace $N-NO_2$, na 0,020 mg.l⁻¹, což byla statisticky průkazně vyšší hodnota ve srovnání s variantami **v** a **o**. Koncentrace dusičnanového dusíku byla na začátku experimentu na obdobné úrovni u všech variant (1,03 až 1,10 mg.l⁻¹). V průběhu experimentu došlo jen k nepatrnému zvýšení množství $N-NO_3$ ve všech variantách (60'): **k**–1,17 mg.l⁻¹; **o**–1,13 mg.l⁻¹; **v**–1,10 mg.l⁻¹. Rozdíly mezi variantami nebyly statisticky průkazné.

Na začátku sledování dosahovala koncentrace amoniakálního dusíku u všech variant prakticky stejné hodnoty 0,52 a 0,53 mg.l⁻¹. V průběhu experimentu došlo nejprve k mírnému poklesu (30') na 0,29 mg.l⁻¹ (**o**); 0,37 mg.l⁻¹ (**k**); 0,42 mg.l⁻¹ (**v**), poté bylo zjištěno opětovné zvýšení koncentrace $N-NH_4$ (60'). Varianta **o** se zvýšila jen mírně na 0,33 mg.l⁻¹, zatímco varianty **v** a **k** se vrátily takřka na stejnou úroveň jakou měly na začátku experimentu (0,50 a



Graf 15: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádka Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p – 0,05).

0,54 mg.l⁻¹). Tento průběh změny koncentrace N-NH₄ se vymyká předchozím zjištěním, kde obvykle docházelo k výraznějšímu zvyšování koncentrace N-NH₄, a to zejména u těch variant, kde byl ve vodě dostatek kyslíku. Z tohoto vývoje lze usuzovat, že nižší nasycení vody kyslíkem u tohoto experimentu (**o**, **v**), resp. pozorovaný neklid ryb omezil jejich metabolickou aktivitu a tím i exkreci amoniaku z těla.

4.6.3 Analýza krve

Výsledky analýzy krve ryb v rámci experimentu č. 6 jsou uvedeny v tabulce č. 13. U varianty **k** došlo vůči začátku experimentu (**s**) k průkaznému zvýšení GLU a průkaznému poklesu pH, HCO₃, tCO₂, pO₂, sO₂. Bez průkazné změny vůči **s** byly hodnoty LACT, pCO₂, AnGAP, tHb, Na⁺, K⁺, Cl⁻. Obdobné výsledky byly zjištěny u varianty **v**, kde došlo k průkaznému zvýšení (ve srovnání s **s**) GLU a sO₂, naopak průkazný pokles byl zjištěn pro HCO₃ a tCO₂. Bez změny vůči **s** zůstaly u varianty **v**: LACT, pCO₂, AnGAP, tHb, Na⁺, K⁺, Cl⁻. Ve variantě **o**, byl průkazný rozdíl vůči **s** zjištěn – pokles: pH, HCO₃, tCO₂, resp. zvýšení: GLU a sO₂. Ostatní sledované parametry (LACT, pCO₂, AnGAP, pO₂, tHb, Na⁺, K⁺, Cl⁻) byly vůči **s** bez průkazných změn.

Za důležité je možné označit, že u varianty **k** došlo k poklesu pO₂ a sO₂ vůči **s** (-28,67 % a -8,33 %), resp. ke zvýšení u **v** (+20,67 % a +10,61 %) a **o** (+11,33 % a +25,97 %). Data z rozboru krve poukazují na mírnou stresovou reakci z důvodu nedostatku kyslíku u varianty **k** (experiment trval 60'). U varianty **v** a **o** jsou lepší podmínky welfare pro ryby poněkud zastřeny jejich zvýšenou pohybovou aktivitou (neklidem), spojenou se zvýšenou spotřebou O₂.



Tab. 13: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádka Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
<i>plazma</i>					
GLU	mmol/l	3,519 $\pm$ 1,250 ^{k,v,o}	4,776 $\pm$ 0,811 ^s	5,566 $\pm$ 0,727 ^s	5,456 $\pm$ 0,824 ^s
LACT	mmol/l	7,431 $\pm$ 2,094	10,654 $\pm$ 1,701	9,291 $\pm$ 2,097	9,726 $\pm$ 1,725
<i>krev</i>					
pH		7,467 $\pm$ 0,064 ^{k,o}	7,314 $\pm$ 0,044 ^{s,v}	7,394 $\pm$ 0,036 ^k	7,371 $\pm$ 0,095 ^s
pCO ₂	mmHg	30,857 $\pm$ 3,720	32,857 $\pm$ 3,182	31,143 $\pm$ 1,552	28,714 $\pm$ 2,491
HCO ₃	mmol/l	20,614 $\pm$ 1,819 ^{k,v,o}	15,543 $\pm$ 1,496 ^s	17,629 $\pm$ 1,981 ^s	15,929 $\pm$ 3,667 ^s
AnGAP	mmol/l	17,086 $\pm$ 2,754	21,557 $\pm$ 1,249	19,357 $\pm$ 2,217	20,329 $\pm$ 4,694
tCO ₂	mmol/l	21,586 $\pm$ 1,850 ^{k,v,o}	16,543 $\pm$ 1,530 ^s	18,571 $\pm$ 2,025 ^s	16,800 $\pm$ 3,730 ^s
pO ₂	mmHg	21,429 $\pm$ 5,500 ^k	15,286 $\pm$ 3,149 ^{s,v,o}	25,857 $\pm$ 2,531 ^k	23,857 $\pm$ 6,512 ^k
tHb	g/dl	9,686 $\pm$ 0,673	10,771 $\pm$ 1,098	10,043 $\pm$ 1,885	9,314 $\pm$ 1,047
sO ₂	%	66,000 $\pm$ 2,726 ^{k,v,o}	*53,000 $\pm$ 4,751 ^{s,v,o}	73,000 $\pm$ 4,309 ^{s,k,o}	83,143 $\pm$ 3,563 ^{s,k,v}
Na ⁺	mmol/l	149,143 $\pm$ 1,959	148,429 $\pm$ 3,417	148,714 $\pm$ 3,010	146,429 $\pm$ 4,030
K ⁺	mmol/l	2,943 $\pm$ 0,306	2,700 $\pm$ 0,288	2,671 $\pm$ 0,345	2,871 $\pm$ 0,443
Cl ⁻	mmol/l	114,714 $\pm$ 1,578	114,143 $\pm$ 2,167	114,571 $\pm$ 2,195	113,143 $\pm$ 3,226

Poznámka: *5 měření pod detekční mez přístroje <60, pro statistiku počítáno jako 50; GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO₃ – hydrogenuhličitán; AnGAP – anionová mezera; tCO₂ – celkový CO₂; pO₂ – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na⁺ – sodíkový iont; K⁺ – draslíkový iont; Cl⁻ – chloridový iont

4.6.4 Analýza tkání

Výsledky analýzy tkání ryb v rámci experimentu č. 6 jsou uvedeny v tabulce č. 14. U varianty **k** došlo k průkaznému zvýšení hodnot sledovaných biomarkerů (vůči **s**) u žaberní tkáně: ROS, TBARS, SOD, GR a GST; u svaloviny: ROS a mozkové tkáně: ROS, SOD a CAT. Ostatní parametry byly na srovnatelné úrovni jako **s**. Ve variantě **v** a **o** došlo k obdobným průkazným změnám sledovaných ukazatelů jen vůči variantě **k** u žaberní tkáně: ROS, TBARS, SOD, GR a GST; u svaloviny: ROS a mozkové tkáně: ROS, SOD a CAT. Ostatní parametry varianty **v** a **o** byly na srovnatelné úrovni jako **s**, resp. **k**.

Z těchto dat je možné vyvodit, že ve variantě **k** došlo díky nedostatku kyslíku k dušení ryb, jenž vyvolalo oxidativní stresovou reakci. Ve variantách s aerační vložkou (**v** a **o**) nebyly indikátory oxidativního stresu zvýšeny.

4.6.5 Dílčí zhodnocení experimentu

Při tomto šestém experimentu realizovaném na tržních kaprech byl opět brán velký zřetel na předejití přesycení vody kyslíkem. Dávkování kyslíku ve variantě **o** bylo připraveno a seřizeno na obdobnou vizuální úroveň bublin předem, a spuštěno, až těsně před nasazením ryb. V průběhu experimentu byl pozorován u ryb umístěných do aeračních vložek určitý neklid. Ryby se aktivně pohybovaly v celém prostoru kádě. To bylo patrné zejména u varianty **o**. Zdálo se, že důvodem může být rušení ryb velkými bublinami vzduchu. Voda v kádích byla velmi čistá a množství ryb v kádích bylo vyšší, ve srovnání s jarními experimenty, ale stále poloviční ve srovnání s prvním experimentem. Navíc v něm bylo vzduchování poměrně slabé. Díky tomu neměly ryby dost prostoru se v kádi uložit mimo proud vzduchu. Nicméně množství ryb nebylo natolik velké, aby se jim znemožnilo fyzicky pohybovat. Kapři se tak mohli snažit dostat do



Tab. 14: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádka Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Parametr (jednotka)		Začátek (s)	Kád' (k)	Aerační Vložka (v)	Aerační vložka s oxygenací (o)
žábry					
ROS	% kontroly	100,543±0,366 ^k	105,829±1,909 ^{s,v,o}	101,571±1,302 ^k	100,671±0,711 ^k
TBARS	nmol/mg protein	0,253±0,041 ^k	0,517±0,096 ^{s,v,o}	0,274±0,032 ^k	0,306±0,045 ^k
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,429±0,052 ^k	1,064±0,100 ^{s,v,o}	0,443±0,050 ^k	0,449±0,078 ^k
CAT	μmol H2O2/min/mg protein	0,171±0,044	0,137±0,013	0,137±0,011	0,164±0,053
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,599±0,098 ^k	1,028±0,063 ^{s,v,o}	0,608±0,101 ^k	0,669±0,112 ^k
GSH	nmol GSH/mg protein	3,954±0,216	3,858±0,434	3,837±0,334	3,906±0,376
GST	nmol/min/mg protein	3,167±0,525 ^k	4,427±0,340 ^{s,v,o}	3,277±0,199 ^k	3,417±0,271 ^k
sval					
ROS	% kontroly	100,229±0,175 ^k	100,757±0,590 ^{s,v,o}	100,271±0,212 ^k	100,171±0,070 ^k
TBARS	nmol/mg protein	0,358±0,048	0,375±0,020	0,373±0,027	0,367±0,051
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,219±0,56	0,230±0,066	0,204±0,044	0,228±0,047
CAT	μmol H2O2/min/mg protein	0,040±0,008	0,043±0,007	0,045±0,014	0,042±0,006
GR	nmol NADPH/min/mg protein	2,233±0,246	2,060±0,100	2,149±0,128	2,088±0,038
GSH	nmol GSH/mg protein	2,563±0,274	2,500±0,201	2,456±0,211	2,366±0,254
GST	nmol/min/mg protein	1,297±0,123	1,288±0,091	1,257±0,117	1,294±0,091
mozek					
ROS	% kontroly	100,243±0,206 ^k	104,443±2,399 ^{s,v,o}	100,286±0,290 ^k	100,329±0,345 ^k
TBARS	nmol/mg protein	1,132±0,108	1,103±0,150	1,183±0,099	1,154±0,297
SOD	nmol NBT/min/mg protein	0,208±0,015 ^k	0,409±0,077 ^{s,v,o}	0,225±0,014 ^k	0,205±0,023 ^k
CAT	μmol H2O2/min/mg protein	0,283±0,045 ^k	0,604±0,070 ^{s,v,o}	0,313±0,052 ^k	0,309±0,040 ^k
GR	nmol NADPH/min/mg protein	0,197±0,014	0,195±0,047	0,189±0,028	0,199±0,027
GSH	nmol GSH/mg protein	4,915±0,216	4,914±0,203	4,957±0,183	4,922±0,356
GST	nmol/min/mg protein	5,906±0,250	5,893±0,262	6,024±0,220	5,938±0,253

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBARS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukovaný glutathion; GST – glutathion S-transferáza

klidnější části kádě a svým pohybem spotřebovávali více kyslíku a roztáčeli vodu do krouživého pohybu (pozorováno zejména u varianty **o**). U varianty **o** se nám tak nedařilo zvyšovat koncentraci kyslíku v kádích ani zvýšenou oxygenací. Technicky sice bylo možné do vody dodávat více kyslíku, ale ten by vytvářel velké bubliny, které by rychle unikaly k vodní hladině. Tím by byla efektivita oxygenace značně snížena. Navíc jsme chtěli předejít oxidativnímu stresu z přesycení vody kyslíkem, proto bylo jeho dávkování do kádí činěno velmi opatrně. Velikost bublin byla tedy vizuálně kontrolována a seřizena tak, aby byly ve všech kádích srovnatelně „malé“. Nicméně hodnoty na průtokoměrech byly pro jednotlivé kádě odlišné. Tento rozdíl (problém) je možné vysvětlit změnou uspořádání rozvodu kyslíku. Zatímco při experimentech č. 1 až 4, byly průtokoměry umístěny vedle kádě, v experimentech č. 5 a 6 byly umístěny v „domečku“ hned u kyslíkové lahvi. Nevýhodou původního uspořádání byla možnost nechtěného posunu dávkovacího kolečka průtokoměru při pohybu kolem kádí (opakovaně zjištěno při experimentech č. 2 až 4). Naproti tomu délka hadice od průtokoměru



k difuzoru byla všude stejná. Upravený rozvod kyslíku však uzavřel průtokoměry do bezpečného prostoru, kde je samovolná manipulace vyloučena. Na druhou stranu se délka hadic od průtokoměru k difuzoru poměrně rozrůžnila: 3 m, 5 m a 8 m (dáno rozmístěním kádí v řadě za sebou). To mohlo působit problémy s řízením dávkování kyslíku do jednotlivých kádí v důsledku různého odporu a tlaku (u delší hadice byla potřeba vyšších dávek O_2). Další možnosti by mohly být nezjištěné netěsnosti spojů (ztvrdnutí plastu a gumy díky nízké teplotě).

Z fyziologického hlediska bylo proto u ryb z varianty **v** a **o** zjištěno zvýšení některých biomarkerů krve indikujících stres, resp. zhoršení životních podmínek (GLU, LACT, pH, HCO_3 , tCO_2) vůči začátku experimentu (**s**). Nicméně v krvi ryb byla zjištěna u obou variant s aerační vložkou (**v** a **o**) průkazně vyšší sO_2 , resp. neprůkazně zvýšení pO_2 . Ryby v experimentu u všech variant tedy vykazovaly určitou stresovou reakci: **k** – ryby v klidu, pomalé dušení až do 60'; **v** a **o** – ryby se aktivně (až nepřírozeně) pohybovaly v kádí. Na druhou stranu se však tento stres ve variantě **v** a **o** nikterak neprojevil ve zvýšení sledovaných biomarkerů tkání. Ty byly vesměs na obdobné úrovni jako **s**. Průkazně vyšší hodnoty ROS, TBARS, SOD (žábry a mozek) byly potvrzeny pouze ve variantě **k**.

4.7 Celkové zhodnocení experimentů

4.7.1 Změny základních fyzikálně-chemických vlastností vody – celkově

Dynamika změn fyzikálně-chemických parametrů vody (v %) v průběhu experimentů je uvedena v tabulce 15. Změna teploty vody v průběhu jednotlivých experimentů byla výrazněji ovlivněna aktuálním vývojem počasí. U varianty **k**, kterou se začínaly všechny experimenty, došlo 3x k poklesu teploty, zatímco u varianty **o** 2x, resp. **v** 1x. Změny teploty vody byly obvykle jen mírné, největší odchylky v čase 60' proti začátku (0') jsou v rozsahu -7,27 % (experiment č. 2, **k**) až +10,16 % (experiment č. 3, **o**). Nicméně bylo zjištěno a prokázáno, že pomocí vzduchování aerační vložkou je možné výrazněji ovlivňovat teplotu vody v kádích. Vháněný vzduch dokáže vodu ochlazovat (např. experiment č. 4) nebo naopak ohřívat (např. experiment č. 5). Tuto skutečnost dokáže rovněž ovlivnit délka přívodní hadice, resp. materiál ze kterého je vyrobena (ocelové potrubí, plast).

Vodivost vody vyjádřená jako SPC vykazovala v průběhu experimentu rostoucí trendy u všech variant. Nejnížší zvýšení v čase 0' až 60' bylo zjištěno u varianty **k** (+2,068 %), zatímco u **v** to bylo +2,812 %, resp. **o** +3,198 %. Nejnížší zvýšení bylo zjištěno na úrovni +0,52 % (experiment č. 4, **k**) a nejvyšší nárůst byl zaznamenán u experimentu č. 5, variantě **v** (+6,75 %).

Hodnota pH vody v průběhu experimentu v obecné rovině vždy klesala. K nejvýraznějšímu snížení docházelo hned na začátku experimentu (0' až 15'), kdy v průměru poklesla hodnota pH u varianty **k** jen o -4,233 %, zatímco u variant s aerační vložkou to byl poněkud výraznější propad -7,392 % (**v**), resp. -8,230 % (**o**). V další fázi sledování (15' až 60', resp. čas ukončení **k**) docházelo už obvykle k mírnějšímu poklesu pH: **k** -3,422 %, **v** -2,365 % a **o** -2,100 %. Za celou dobu sledování (0' až 60') klesala hodnota pH v průměru nejméně u varianty **k** (-7,508 %), zatímco u varianty **v** to bylo -9,618 % a **o** až -10,170 %. Nejnížší pokles pH byl zjištěn u experimentu č. 1, varianta **k** (-2,76 %) a experimentu č. 5, varianta **k** (-2,79 %). K největšímu poklesu došlo naopak u experimentu č. 3, varianta **o** (-15,32 %) a **v** (-14,41 %). Lepší kyslíkový režim v kádích s aerační vložkou umožňoval vyšší metabolismus rybám a tím pádem i exkreci CO_2 , který snižoval hodnotu pH.



Oxido redukční potenciál – ORP se v průběhu sledování nejčastěji zvyšoval, přičemž jeho pokles byl zjištěn prakticky jen při experimentu č. 1 (nejvyšší biomasa ryb – 363,34 kg.m³). Poněkud překvapivé je zvyšování ORP u varianty **k**, kde bylo v průměru zjištěno zvýšení o +25,947 % (0' až 60', resp. konec varianty), zatímco u varianty **v** docházelo v průměr ke zvýšení jen o +1,060 %. Nejvyšší průměrné zvýšení ORP za celou dobu experimentu bylo zaznamenáno u varianty **o** +32,402 %. V rámci jednotlivých experimentů (čas 0' až 60') byl největší pokles ORP zaznamenán v experimentu č. 1, varianta **o** (-20,99 %) a **k** (-20,67 %). Naopak k nejvyššímu zvýšení ORP došlo u experimentu č. 5, varianta **k** (+134,69 %) a varianty **o** (+130,34 %).

Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg.l⁻¹) za celou dobu experimentu (0' až 60') klesalo nejvíce nepřekvapivě u varianty **k** (-81,032 %). U varianty **v** to však bylo -71,570 %, zatímco varianta **o** vykazovala průměrný pokles koncentrace kyslíku jen -25,120 % (statisticky průkazně méně). Poněkud jiný pohled na dynamiku poklesu kyslíku ukazuje snížení v prvních 15 minutách sledování (0' až 15') a těch následujících (15' až 60', resp. do konce **k**). Zatímco v čase 0' až 15' došlo v průměru k poklesu množství kyslíku u varianty **k** o -47,327 %, u varianty **v** to bylo snížení o -52,083 %. Varianta **o** poklesal jen o -19,403 %. V další fázi experimentu (0' až 60') se situace již změnila: **k** -55,997 %; **v** -35,813 % a **o** -6,310 % (statisticky průkazně nižší pokles). Nejvýraznější pokles za celou dobu sledování (0' až 60') byl zjištěn u experimentu č. 3, varianta **k** (-97,24 %). Naopak k nejnižšímu poklesu, resp. zvýšení koncentrace kyslíku

Tab. 15: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentů (průměr±SD, n=6 ks, p = 0,05).

Parametr	interval	kád' (k)	aerační vložka (v)	aerační vložka s oxygenací (o)
Teplota	0' – 15'	0,175±3,726	1,525±1,537	0,892±3,237
	15' – 60'	1,038±2,745	0,657±2,151	1,355±2,094
	0' – 60'	1,277±5,997	2,183±2,799	2,308±5,069
SPC	0' – 15'	1,270±0,844	1,428±0,609	1,345±0,470
	15' – 60'	0,788±0,390	1,358±1,357	1,827±1,217
	0' – 60'	2,068±0,906	2,812±1,892	3,198±1,647
pH	0' – 15'	-4,233±3,323	-7,392±4,010	-8,230±3,394
	15' – 60'	-3,422±2,223	-2,365±1,794	-2,100±0,630
	0' – 60'	-7,508±3,907	-9,618±3,332	-10,170±,449
ORP	0' – 15'	27,338±41,455	-2,585±10,589	11,230±31,736
	15' – 60'	-1,538±13,900	4,278±12,933	17,947±15,845
	0' – 60'	25,947±50,376	1,060±13,847	32,402±47,533
Kyslík (mg.l ⁻¹)	0' – 15'	-47,327±22,300	-52,083±19,348	-19,403±25,900
	15' – 60'	-55,997±36,938 ^a	-35,813±26,909 ^{a,b}	-6,310±20,539 ^b
	0' – 60'	-81,032±14,325^a	-71,570±14,739^a	-25,120±26,727^b
Kyslík (%)	0' – 15'	-47,155±22,541	-51,835±19,365	-19,438±25,550
	15' – 60'	-55,312±37,287	-35,797±28,044	-5,388±20,520
	0' – 60'	-80,652±14,535^a	-71,513±14,666^a	-24,405±26,328^b
TDS	0' – 15'	1,290±0,850	1,420±0,569	1,403±0,486
	15' – 60'	0,730±0,360	1,265±1,479	1,832±1,104
	0' – 60'	2,032±0,892	2,710±1,964	3,273±1,487



došlo při experimentu č. 4, **o** (+20,08 %) – nízká biomasa ryb (45,45 kg.m³), jenž nezavdala dodávaný kyslík spotřebovat. Obdobné trendy byly zjištěny i pro nasycení vody kyslíkem (%).

Zákal vody měřený jako turbidita (NTU) vykazoval u jednotlivých experimentů poměrně rozdílné změny (zvyšování z nulových hodnot, znamenalo řádově tisícinásobné zvýšení), jenž se nedají interpretovat stejným způsobem jako ostatní sledované parametry. Proto není tato hodnota uvedena v tabulce č. 15. Nicméně na základě všech provedených experimentů je možné konstatovat, že varianty s aerační vložkou (**v** a **o**) měly obvykle nižší hodnoty turbidity, které se navíc v čase postupně snižovaly. To je dáno především dvojitým dnem, které umožňuje sedimentaci nerozpuštěných látek v prostoru mimo dosah ryb. Díky tomu dochází ke zlepšování kvality vody a omezení abrazivních účinků partikulí nerozpuštěných látek na těle ryb (zejména žábrech).

Koncentrace celkových rozpuštěných pevných látek (TDS) se v průběhu sledování (0' až 60') zvyšovala. Nejnižší průměrné zvýšení TDS bylo zjištěno u varianty **k** +2,032 %. Poněkud vyšší nárůst byl zaznamenán u varianty **v** +2,710 %, resp. **o** +3,273 %. V prvních 15 minutách experimentu (0' až 15') byl zaznamenán výraznější nárůst proti zbytku sledování (15' až 60') u varianty **k**: +1,290 % a +0,730 %, resp. varianty **v**: +1,420 % a +1,265 %. Naproti tomu varianta **o** měla průměrné zvýšení (0' až 15') ve srovnání s ostatními variantami absolutně vyjádřeno nejvyšší a to +1,403 %, nicméně v další fázi sledování (15' až 60') došlo k jeho dalšímu zvýšení až na +1,832 %. Nejnižší zvýšení TDS bylo zjištěno (0' až 60') při experimentu č. 4 (**k** +0,49 %). Naopak k největšímu nárůstu hodnoty TDS došlo při experimentu č. 5 (**v** +6,7 %).

4.7. 2 Laboratorní analýza vody – celkově

Hodnoty průměrných změn (v %) laboratorně analyzovaných parametrů vody (N-NO₂, N-NO₃ a N-NH₄) uvádí tabulka 16. V obecné rovině můžeme konstatovat, že u prvních třech experimentů docházelo k celkovému snižování N-NO₂, zatímco u posledních třech experimentů došlo k mírnému zvýšení (jen u varianty **k**), resp. ke změně koncentrace dusitanů nedocházelo. Průměrná koncentrace dusitanového dusíku (0' až 60') tedy klesala u varianty: **k** -2,022 %; **v** -3,860 % a **o** -4,208 %. K výraznějšímu snížení koncentrace dusitanů docházelo u všech variant především v první polovině sledování (0' až 30'). Nicméně varianta **o** si udržela průměrný pokles na obdobné úrovni i v druhé polovině sledování (30' až 60') -2,180 %.

Tab. 16: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých laboratorně analyzovaných parametrů vody v průběhu experimentů (průměr±SD, n=6 ks, p = 0,05).

Parametr	interval	kád' (k)	aerační vložka (v)	aerační vložka s oxygenací (o)
N-NO ₂	0' – 30'	-2,342±4,156	-3,417±3,456	-2,107±2,168
	30' – 60'	0,352±5,167	-0,482±2,613	-2,180±4,948
	0' – 60'	-2,022±6,609	-3,860±4,625	-4,208±5,801
N-NO ₃	0' – 30'	55,938±109,209	8,637±42,877	21,142±50,780
	30' – 60'	6,628±9,250	-0,665±24,312	-17,898±22,431
	0' – 60'	66,407±116,564	-1,872±17,304	-10,335±14,851
N-NH ₄	0' – 30'	236,02±293,02	779,27±1303,94	804,88±1385,21
	30' – 60'	35,51±14,35	50,55±38,48	74,22±55,33
	0' – 60'	350,9±418,1	1 712,8±3 135,4	2 062,3±3 815,6



Nejvyšší pokles N-NO_2 (0' až 60') byl zjištěn při experimentu č. 1 u varianty **o** (-16,09 %), resp.

k nejvyššímu zvýšení došlo při experimentu č. 6, ve variantě **k** (+7,14 %).

Koncentrace dusičnanového dusíku (0' až 60') byla v průměru zvýšena o +66,407 % u varianty **k**, zatímco varianta **v** ukazovala pokles -1,872 %, resp. varianta **o** až -10,335 %. Na začátku experimentu na obdobné úrovni u všech variant (1,03 až 1,10 mg.l^{-1}). Odlišný vývoj však ukazoval průběh první poloviny sledování (30' až 60'), neboť zde byl v průměru zjištěn nárůst: **k** +55,938 %; **v** +8,637 % a **o** +21,142 %. V druhé polovině experimentu (30' až 60') došlo v průměru ke zvýšení koncentrace N-NO_3 u varianty **k** +6,628 %, zatímco varianty **v** a **o** poklesly (-0,482 % a -2,180 %). Dostatek kyslíku ve vodě tedy umožňoval odbourávání dusičnanů. Největší zvýšení dusičnanového dusíku bylo zjištěno při experimentu č. 5, varianta **k** +315,38 %. Naopak k nejvýraznějšímu snížení N-NO_3 (-37,04 %) došlo překvapivě opět ve variantě **k**, nicméně při experimentu č. 4 (nízká biomasa štik 45,45 kg.m^{-3}).

U koncentrace amoniakálního dusíku je u všech variant v průběhu experimentu (0' až 60') zjišťováno zvýšení. V průměru je nejnižší nárůst N-NH_4 zjištěn u varianty **k** +350,9 %, zatímco varianty **v** a **o** ukazovaly výraznější nárůst: +1 712,8 % a +2 062,3 %. Největší průměrný nárůst N-NH_4 však byl zjištěn v první polovině sledování (0' až 30'): **k** +236,0 %; **v** +779,3 %; **o** +804,9 %. V druhé polovině sledování (30' až 60') bylo průměrné zvyšování poněkud nižší: **k** +35,5 %; **v** +50,6 %; **o** +74,2 %. V průběhu experimentu č. 6 byl zaznamenán pokles koncentrace N-NH_4 (0' až 60') u varianty **v** (-5,63 %) a **o** (-37,58 %). Nejvyšší zvýšení koncentrace N-NH_4 bylo zjištěno při experimentu č. 5 (**k** +1 1129 %; **v** +8 700 %; **o** +10 567 %).

4.7.3 Analýza krve – celkově

Hodnoty průměrných změn (v %) parametrů z analýzy krve ryb na konci experimentu (**k**, **v**, **o**) vůči jeho začátku (**s**) uvádí tabulka 17. V obecné rovině můžeme konstatovat, že k největšímu zvyšování GLU docházelo u varianty **k** a **v**. U varianty **o** to bylo v průměru takřka o polovinu méně. Obdobně, ale mnohem výrazněji vypadají rozdíly LACT. Zatímco u varianty **k** docházelo v průměru ke 208% zvýšení jeho množství, ve variantě **v** to bylo poloviční – 105% zvýšení LACT. Naproti tomu varianta **o** měla průměrné zvýšení LACT jen o 15,87 %.

Zajímavý byl i pokles hodnoty pH krve. Zatímco ve variantě **k** docházelo k jeho snížení v průměru o -1,227 %, ve variantě **v** to bylo -0,813 % a variantě **o** jen -0,264 %. Naproti tomu parciální tlak CO_2 v krvi klesal v opačném trendu. Nejnižší pokles byl zaznamenán ve variantě **k**, poté **v**, a k největšímu snížení pCO_2 docházelo u varianty **o**, v průměru o -14,542 %. Změny HCO_3^- v krvi ryb nejvýraznější u variant **k** a **v** (-16,084 a -15,295 %), zatímco u varianty **o** docházelo v průměru ke snížení o -12,691 %. Podobný pokles byl zaznamenán rovněž pro tCO_2 . Ke zvyšování AnGAP docházelo nejvíce ve variantě **k** (+17,794 %), zatímco u varianty **v** to bylo v průměru zvýšení o +13,454 %, resp. ve variantě **o** +10,114 %.

Z naměřených rozdílů hodnot mezi začátkem a koncem experimentu statisticky průkazně plyne, že u varianty **k** docházelo k výraznému poklesu pO_2 a sO_2 (-43,44 a -25,24 %). Naproti tomu ve variantě **v** bylo zjištěno zvýšení pO_2 +13,24 %, resp. minimální snížení sO_2 jen -0,487 %. Varianta **o** ukázala průkazně vyšší hodnoty vůči **s** jak pro pO_2 (+46,27 %), tak sO_2 (+20,84 %). Z vypočtených rozdílů změn jednotlivých parametrů se jeví, že ryba reaguje na nedostatek kyslíku ve vodě, resp. krvi, zvýšením množství hemoglobinu v krvi. Ve variantách **k** byl totiž statisticky průkazný nárůst tHb +9,78 % vůči **s**, zatímco u varianty **v** to bylo zvýšení +1,48 %. Při dostatku, resp. nadbytku kyslíku došlo naopak ke snížení tHb (**o** -0,17 %).



Tab. 17: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých parametrů z analýzy krve v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=5 ks, p = 0,05).

Parametr	rozdíln s/k (%)	rozdíln s/v (%)	rozdíln s/o (%)
GLU	94,347 $\pm$ 78,383	88,457 $\pm$ 28,347	47,544 $\pm$ 46,166
LACT	208,390 $\pm$ 213,324	105,125 $\pm$ 121,732	15,873 $\pm$ 15,376
pH	-1,227 $\pm$ 1,512	-0,813 $\pm$ 1,540	-0,264 $\pm$ 0,939
pCO ₂	-6,508 $\pm$ 15,696	-11,877 $\pm$ 15,419	-14,542 $\pm$ 12,920
HCO ₃	-16,084 $\pm$ 6,361	-15,295 $\pm$ 13,790	-12,691 $\pm$ 9,385
AnGAP	17,794 $\pm$ 11,429	13,454 $\pm$ 10,921	10,114 $\pm$ 7,062
tCO ₂	-15,852 $\pm$ 5,385	-15,581 $\pm$ 12,238	-13,026 $\pm$ 8,921
pO ₂	-43,444 $\pm$ 23,428 ^a	13,238 $\pm$ 50,186 ^{a,b}	46,267 $\pm$ 32,839 ^b
tHb	9,777 $\pm$ 4,376 ^a	1,479 $\pm$ 5,438 ^b	-0,171 $\pm$ 5,035 ^b
sO ₂	-25,243 $\pm$ 10,323 ^a	-0,487 $\pm$ 11,237 ^b	20,836 $\pm$ 7,026 ^c
Na ⁺	1,170 $\pm$ 1,318	0,925 $\pm$ 1,556	0,295 $\pm$ 2,724
K ⁺	3,937 $\pm$ 42,361	-14,838 $\pm$ 21,334	-21,094 $\pm$ 20,495
Cl ⁻	0,594 $\pm$ 0,949	0,710 $\pm$ 2,042	-0,232 $\pm$ 2,373

Poznámka: GLU – glukóza; LACT – laktát; pCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého; HCO₃ – hydrogenuhličitan; AnGAP – anionová mezera; tCO₂ – celkový CO₂; pO₂ – parciální tlak kyslíku; tHb – celkový hemoglobin; sO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem; Na⁺ – sodíkový iont; K⁺ – draslíkový iont; Cl⁻ – chloridový iont

Změny sledovaných iontů v krvi ryb ukazují, že při nedostatku kyslíku ve vodě dochází k mírnému zvyšování množství Na⁺, K⁺ i Cl⁻ v krvi. Naproti tomu při dostatku kyslíku ve vodě dochází spíše ke snížení iontu K⁺ a Cl⁻.

4.7.4 Analýza tkání – celkově

Hodnoty průměrných změn (v %) biomarkerů tkání ryb na oxidativní stres uvádí tabulka 16. V obecné rovině můžeme konstatovat, že oxidativní stres byl potvrzen jak při nedostatku kyslíku ve vodě (varianta **k**, všechny experimenty), tak i při jeho nadbytku (varianta **o**, experimenty č. 2 až 4), a to ve všech sledovaných tkáních. Mnohem menší změny biomarkerů byly proto zaznamenány u varianty **v**, která ve většině případů odpovídala hodnotám naměřeným na začátku experimentu (**s**).



Tab. 18: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých biomarkerů tkání ryb v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=5 ks, p = 0,05).

Parametr	rozdíl s/k (%)	rozdíl s/v (%)	rozdíl s/o (%)
<i>žábry</i>			
ROS	10,976 $\pm$ 4,752	1,903 $\pm$ 1,310	10,590 $\pm$ 9,275
TBARS	52,994 $\pm$ 33,883	-0,213 $\pm$ 7,360	71,181 $\pm$ 62,545
SOD	88,577 $\pm$ 45,836	5,060 $\pm$ 12,777	60,093 $\pm$ 70,863
CAT	74,546 $\pm$ 57,719	8,492 $\pm$ 17,501	171,590 $\pm$ 169,259
GR	38,918 $\pm$ 29,411	0,706 $\pm$ 4,379	23,757 $\pm$ 23,656
GSH	6,943 $\pm$ 10,582	-1,862 $\pm$ 5,883	11,667 $\pm$ 22,759
GST	21,119 $\pm$ 19,386	0,643 $\pm$ 6,012	31,789 $\pm$ 43,270
<i>sval</i>			
ROS	7,417 $\pm$ 6,688	1,820 $\pm$ 1,315	10,189 $\pm$ 10,431
TBARS	13,954 $\pm$ 14,385	-4,034 $\pm$ 4,835	37,222 $\pm$ 40,716
SOD	32,786 $\pm$ 21,120	4,699 $\pm$ 10,351	68,020 $\pm$ 90,010
CAT	28,047 $\pm$ 33,542	4,250 $\pm$ 13,411	50,564 $\pm$ 81,724
GR	6,818 $\pm$ 19,792	-1,942 $\pm$ 5,048	15,897 $\pm$ 31,310
GSH	7,064 $\pm$ 18,719	-4,223 $\pm$ 4,983	12,355 $\pm$ 35,750
GST	1,545 $\pm$ 7,843	-1,613 $\pm$ 1,961	11,027 $\pm$ 21,772
<i>mozek</i>			
ROS	4,680 $\pm$ 1,764	1,304 $\pm$ 0,957	5,990 $\pm$ 4,738
TBARS	33,405 $\pm$ 40,770	4,046 $\pm$ 4,884	60,430 $\pm$ 83,797
SOD	66,531 $\pm$ 30,204	4,219 $\pm$ 3,091	83,109 $\pm$ 90,616
CAT	37,292 $\pm$ 40,340	-2,973 $\pm$ 9,953	25,503 $\pm$ 39,615
GR	15,143 $\pm$ 16,922	-0,747 $\pm$ 6,268	57,836 $\pm$ 103,301
GSH	16,625 $\pm$ 13,291	0,337 $\pm$ 1,231	23,151 $\pm$ 24,297
GST	4,836 $\pm$ 12,805	-0,712 $\pm$ 8,864	20,931 $\pm$ 25,400

Poznámka: ROS – reaktivní formy kyslíku; TBARS – látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou; SOD – superoxiddismutáza; CAT – kataláza; GR – glutathionreduktáza; GSH – redukovaný glutathion; GST – glutathion S-transferáza



5. Závěr

Při testování aerační vložky a aerační vložky s oxygenací bylo prokázáno zlepšení kvality vody v kádích, jakož i zlepšení hodnot biomarkeru krve a oxidativního stresu. Cíle projektu směřující ke zlepšování welfare ryb byly tedy naplněny. Nicméně se při experimentech ukázaly i určité technické problémy, na které bylo potřeba reagovat. To však není překvapivé při testování zcela nové, prozatím neověřené technologie.

Z praktického hlediska plní aerační vložky svoji funkci podle očekávání dobře. Umísťování a lovení ryb keserem probíhalo vždy bez problémů. Lovci si nikdy neztěžovali na zachytávání sakoviny nebo jiné komplikace spojené s chytáním ryb. Vložky byly opravdu hladké a fakticky nebyl poznat rozdíl proti obyčejné kádi.

Z pohledu kvality vody v kádích bylo podle očekávání zjištěno, že má aerační vložka s oxygenací schopnost vytvářet lepší kyslíkové podmínky. Na druhou stranu byly zjištěny určité změny fyziologického stavu ryb v důsledku přesycení vody kyslíkem (oxidativní stres tkání). Proto je nutné předcházet přesycení vody kyslíkem v kádích nad 150 %. I když v kádích s aerační vložkou bez oxygenace (varianta **v**) byly měřeny koncentrace kyslíku na podobné úrovni, jako u obyčejné kádě (**k**), fyziologický stav ryb byl vždy mnohem lepší ve srovnání s variantou **k**. Sledované biomarkery krve a tkání vykazovaly ve variantě **v** rovněž velmi často obdobné hodnoty, jaké byly zjištěny na začátku experimentu, resp. na jeho konci u varianty **o**. Z toho plyne, že v provozních podmínkách bude postačovat ke zlepšení welfare ryb i pouhé vzduchování. Z důvodu předejití oxidativního stresu z přesycené vody kyslíkem tedy doporučujeme nezahajovat oxygenaci kádí před nasazením ryb, resp. při jejich nízké biomase. Dodávku kyslíku doporučujeme zahájit až po překročení biomasy ryb v kádi nad 100 kg/m³ (cca „vanička kaprů na kád“). Vzduchování je možné provádět kontinuálně bez omezení.

Z praktického hlediska a s ohledem na zlepšení welfare ryb a na prevenci vzniku oxidativního stresu ryb (kyslíkový deficit, přesycení vody O₂) je vhodné pravidelně sledovat aktuální nastavení dávek kyslíku na průtokoměrech, vizuálně kontrolovat množství a velikost bublin O₂, a průběžně měřit jeho koncentraci v kádích.

Pro komerční výrobu a nasazení vložek do rybářského provozu bude potřeba provést jejich drobné technické vylepšení. Optimalizovat je potřeba typy přírodních a difuzních hadic plynů s ohledem na tlak vzduchu a O₂ používaný zákazníky. Dávkování množství plynů je potřeba mít možnost spolehlivě regulovat. Nutností je tedy bezpečná konstrukce regulačního místa (jak pro vzduch, tak pro O₂) a jeho umístění při výlovu na relativně klidné místo tak, aby nemohlo dojít k samovolné (nechtěné) změně. Jelikož byl u posledních experimentů (č. 5 a 6) pozorován u ryb určitý neklid ve variantě **v** a **o**, bude potřebné zaměřit se také na úpravu způsobu dávkování vzduchu. Zdá se, že větší objem vzduchu a velké bubliny ryby zneklidňují a nutí je k nadměrnému pohybu. Tato jejich reakce vede následně ke zvyšování spotřeby kyslíku v kádi a poklesu jeho koncentrace. Řešením tohoto problému je použití difuzéru s menšími bublinami, resp. upravení otvorů pro vzduch na dně vložky tak, aby se maximálně předcházelo spojování malých bublin vzduchu do větších. V konstrukci aeračních vložek by bylo vhodné mít rovněž otvory po obvodu dna vložky obdobě, jak je tomu u vložek umožňujících oxygenaci. I když se těmito otvory nebude provádět syčení vody kyslíkem (do budoucna by je bylo tam snadněji přidat), tato perforace dna umožní lepší sedimentaci nerozpuštěných látek v meziprostoru a usnadní umísťování a vyndávání vložek z kádě plné vody (více otvorů kterými může voda procházet = rychlejší vynoření a ponoření).



6. Použitá literatura

- Aebi, H., 1984. Catalase invitro. *Methods in Enzymology* 105, 121–126.
- Bradford, M.M., 1976. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–254.
- Bušova, M., Špičák, V., Osička, R. 2014. Fish Welfare Status in Czech Republic. *Int. J. of Aquatic Science*, 5(2): 208–214.
- Dobšíková, R., Svobodová, Z. Bláhová, J., Modrá, H., Velíšek, J. 2006. Stress Response to Long Distance Transportation of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno*, 75: 437–448; doi:10.2754/avb200675030437
- Dobšíková, R., Svobodová, Z. Bláhová, J., Modrá, H., Velíšek, J. 2009. The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech J. Anim. Sci.*, 54, (11): 510–518
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1975. Purification and characterization of flavoenzyme glutathione. *Journal of Biological Chemistry* 25: 5475–5480.
- Conte, F. S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* (86), 3–4, s 205–223.
- Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. *Rybníkářství. Informatorium*. Praha, 306 s.
- EFSA, 2008. Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on animal welfare aspects of husbandry systems for farmed fish: carp. *The EFSA Journal* 843:1–28.
- EFSA, 2009. Species-specific welfare aspects of the mainsystems of stunning and killing of farmed carp. *The EFSA Journal* 1013:1–37.
- Ellmann, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82, 70–79.
- Ewing, J. F., Janero, D. R., 1995. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator. *Analytical Biochemistry* 232, 243–248.
- Habig, W. M., Pabst, M. J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry* 249, 7130–7139.
- Hartman, P., Regenda, J. 2016. *Praktika v rybníkářství, JU v Č. Budějovicích, FROV Vodňany*, 375 s.
- Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandøe, P. and Turnbull, J.F. (2006), Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68: 332–372. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x>
- Lines, J. A., Spence, J. 2012. Safeguarding the welfare of farmed fish at harvest. *Fish Physiol Biochem* 38:153–162, DOI 10.1007/s10695-011-9561-5
- Palíková, M., Piačková, V., Navrátil, S., Zusková, E., Papežíková, I., Kolářová, J., Pojezdal, L., Dyková, I., Scholz, Z., Gelnar, M., Svobodová, Z., Řehulková, E., Mareš, J., Modrá, H., Blažek, R., Veselý, T., 2019. Nemoci a chorobné stavy ryb. *JU v Č. Budějovicích, FROV Vodňany*, 462 s.
- Pavlíček, M. 2012. Podmínky prostředí při výlovu kaprového rybníka, Diplomová práce, FROV JU., 91 s.
- Svobodová, Z., Vykusová, B., Modrá, H., Jarkovský, J., Smutná, M., 2006. Haematological and biochemical profile of harvest-size carp during harvest and post-harvest storage. *Aquaculture Research*, 37: 959–965. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01511.x>



Stará, A., Zusková, E., Kouba, A., Velíšek, J., 2016. Effects of terbuthylazine-desethyl, a terbuthylazine degradation product, on red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). Science of the Total Environment 566/567, 733–740.

Uchiama, M., Mihara, M., 1978. Determination of malonyldialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Analytical Biochemistry 86, 271–278.

Zhang, X., Yang, F., Zhang, X., Xu, Y., Liao, T., Song, S., Wang, H., 2008. Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rareminnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD). Aquat. Toxicol. 86, 4–11.

7. Seznam tabulek, grafů a obrázků

Tabulky

Tab. 1 Organizace experimentu č. 4 s tržní štikou (25 kg Št/kád'), uskutečněného 31. 3. 2020.

Tab. 2 Organizace experimentu č. 5 s násadou kapra (100 kg K2/kád'), uskutečněného 13.10.2020.

Tab. 3 Organizace experimentu č. 6 s tržním kaprem (100 kg Kt/kád'), uskutečněného 3.12.2020.

Tab. 4 Porovnání dizajnu všech experimentů uskutečněných v rámci projektu.

Tab. 5: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 6: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 7: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 8: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 9: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádky Tábor, štika tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 10: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádky Tábor, štika tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 11: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 12: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 13: Přehled analyzovaných hodnot krve při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 14: Přehled analyzovaných hodnot tkání při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměr $\pm$ SD, n=7 ks, p = 0,05).

Tab. 15: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých fyzikálně-chemických parametrů vody v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=6 ks, p = 0,05).



Tab. 16: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých laboratorně analyzovaných parametrů vody v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=6 ks, p = 0,05).

Tab. 17: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých parametrů z analýzy krve v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=5 ks, p = 0,05).

Tab. 18: Přehled průměrné změny (%) jednotlivých biomarkerů tkání ryb v průběhu experimentů (průměr $\pm$ SD, n=5 ks, p = 0,05).

Grafy

Graf 1: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 1, 28.11.2019 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 2: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 1, 28. 11. 2019 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 3: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 4: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 2, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 5: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 6: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 3, 31. 3. 2020 sádky Tábor, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p = 0,05).

Graf 7: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádky Tábor, štika tržní (průměrné hodnoty ze dvou opakování, p = 0,05).

Graf 8: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 4, 31. 3. 2020 sádky Tábor, štika tržní (průměrné hodnoty ze dvou opakování, p = 0,05).

Graf 9: Porovnání rozdílů teploty vody v kádích (průměr za všechna měření) mezi jednotlivými opakováními variant: k-kádě (zelená, n=4), v-aerační vložka (modře, n=9) a o-aerační vložka s oxygenací (červeně, n=7) při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, K2 (p=0,05).

Graf 10: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p=0,05).

Graf 11: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, p=0,05).

Graf 12: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody v lovišti a síti s rybami na rybníku Stará Komora při experimentu č. 5, 13. 10. 2020 (kapr násada). Svisle barevné čáry označují začátek jednotlivých variant experimentu: zelená – kádě, modrá – kádě s aerační vložkou a červená kádě s aerační vložkou s oxygenací.



Graf 13: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 5, 13. 11. 2020 rybník Stará Komora, kapr násada (průměrné hodnoty ze tří opakování, $p = 0,05$).

Graf 14: Dynamika změny vybraných fyzikálně-chemických parametrů vody při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, $p = 0,05$).

Graf 15: Dynamika změny vybraných laboratorně analyzovaných parametrů vody při experimentu č. 6, 3. 12. 2020 sádky Tábor, kapr tržní (průměrné hodnoty ze tří opakování, $p = 0,05$).

Obrázky

Obr. 1 Schéma fungování aerační vložky (vlevo) a aerační vložky s oxygenací (vpravo).

Obr. 2 Ukázka fungování aerační vložky s oxygenací (A - vzduchování, B - oxygenace, C - spolu).

Obr. 3 Ukázka konstrukce a uspořádání rozvodů plynů na spodní straně aerační vložky (vlevo) a aerační vložky s oxygenací (vpravo) (foto J. Regenda).

Obr. 4 Upravený centrální rozvod vzduchu (šedivé pastové trubky) a kyslíku (zelený box na kyslíkové lahvi) na rybníku Stará Komora (foto J. Regenda).

Obr. 5 Původní uspořádání rozvodu plynů s regulací průtoku kyslíku u kádě (viz. žlutá šipka), při experimentu č. 1, sádky Tábor (foto J. Regenda).

Obr. 6 Celkový pohled na sádku č. 9 při prvním experimentu s nasazením tržních kaprů dne 28.11. 2019, na levé straně je varianta **o**, na pravé straně vzadu varianta **v** a v popředí pravé strany je varianta **k** (foto J. Regenda).

Obr. 7 Celkový pohled na umístění kádí při experimentech dne 31. 3. 2020 (experiment 2 až 4). Zleva 3x kádě varianty **k**, uprostřed 3x kádě s vložkou varianty **v** a zcela vpravo 3x kádě s vložkou varianty **o** (foto J. Regenda).

Obr. 8 Rybník Stará Komora, k.ú. Kolišov – 6,1 ha (foto J. Regenda).

Obr. 9 Celkový pohled na umístění kádí na rybníku Stará Komora při experimentu č. 5 dne 13. 10. 2020 (foto J. Regenda).

Obr. 10 Celkový pohled na umístění kádí na sádkách v Táboře při experimentu č. 6 dne 3. 12. 2020 (foto J. Regenda).

Obr. 11 Multiparametrální sonda YSI EXO2 (foto J. Regenda).

Obr. 12 Odběr a základní zpracování vzorků krve ryb (foto J. Regenda a J. Příborský).

Obr. 13 Odběr a uskladnění tkání ryb pro další analýzy (foto J. Regenda a J. Příborský).



8. Přílohy

Regenda, J., Růžek, M., Dvořák, M., Rutegwa, M., Stará, A., Velíšek, J., 2020. Aerační vložka pro rybářskou kád' pro zlepšení welfare ryb. In: Holubová, M. & Blabolil, P. (eds.) Sborník abstraktů z XVII. České rybářské a ichthyologické konference, České Budějovice, Biologické Centrum AV ČR, v.v.i., 90 pp.

2. Akvakultura a vliv rybí obsádky na ekosystém

XVII. Rybářská a ichthyologická konference

Aerační vložka s oxygenací pro rybářskou kád' pro zlepšení welfare ryb

Aeration insert with oxygenation for the fish vat to improve fish welfare

Regenda J.^{1*}, Růžek M.³, Dvořák J.³, Rutegwa M.¹, Stará A.², Velíšek J.²

¹Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Na Sádkách 1780, České Budějovice

²Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Zátíší 728/II 389 25 Vodňany

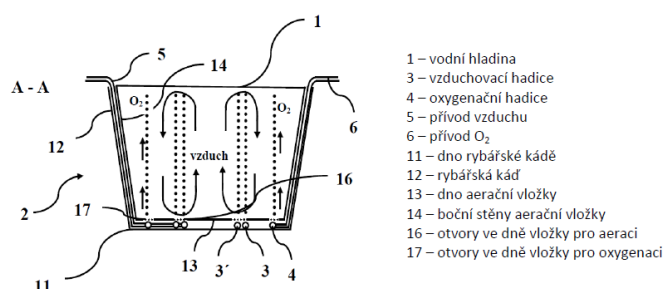
³ŠTIČÍ LÍHEŇ – ESOX, spol. s r.o., Jordánská 366, 390 01 Tábor

*regenda@frov.jcu.cz

Obvyklá manipulace s rybami v akvakultuře je doprovázená rovněž jejich krátkodobým skladováním, které je příznačné pro výlovy rybníků, třídění ryb, nebo jejich prodej. Tyto situace jsou typické velkou koncentrací ryb v malém objemu vody. V průběhu času proto dochází k relativně rychlému zhoršování životních podmínek pro ryby – zejména nedostatek kyslíku a tím i narušení jejich welfare. Výměna vody v kád' není vždy možná, resp. použití standardních aeračních či oxygenačních prostředků není vhodné. Důvodem je nedostatek přiměřeně kvalitní vody (především při výlovech), resp. omezení lovení ryb v kád' mezi hadicemi a jejich zátěží, které navíc mohou poškozovat ryby. Určité řešení tohoto problému přináší nový patent č. 308381 „Aerační a oxygenační zařízení, zejména pro rybářské kád'“. Jeho podstatou je instalace speciální vložky do jakékoli standardní rybářské kád'. Tato vložka je navržena tak, aby ji bylo možné použít dle potřeby bez velkých úprav stávajících kád'. Její konstrukce zmenšuje užitečný objem kád' jen minimálně. Aerační a oxygenační hadice jsou umístěny pod dnem vložky, které je opatřeno otvory, jimiž unikají plyny k vodní hladině. Uspořádání hadic na vnější straně vložky je specifické: uprostřed jsou umístěny aerační hadice které míchají vodu v kád' (pohyb nahoru uprostřed, po obvodu se voda zanořuje). Naproti tomu kyslík je uvolňován po obvodu kád', proti zpětnému proudu vody. Díky tomu dochází k menší spotřebě kyslíku a jeho lepší distribuci v prostoru celé kád'. Testování účinnosti aerační vložky proběhlo na kaprovi (tržním a násadě) a tržní šticce. Při ověřování této vložky byly sledovány fy-ch. parametry vody v kád' (teplota, O₂, pH, ORP, turbidita, koncentrace N-NO₂, N-NO₃ a N-NH₄⁺). Změna fyziologického stavu ryb byla sledována analýzou krve (glukóza, parciální tlak CO₂, HCO₃⁻, aniontová mezera, celkový CO₂, parciální tlak O₂, celkový hemoglobin, saturace hemoglobinu O₂, Na⁺, K⁺, Cl⁻) a analýzou tkání (žábra, mozek, sval), kde se sledoval vliv na rovnováhu aniontů a oxidativní stres (reaktivní formy kyslíku, látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou, superoxiddismutáza, kataláza, glutathionreduktáza, redukovaný glutathion a glutathion S-transferáza). V kádích s aerační vložkou s oxygenací vykazovala voda i ryby lepší hodnoty sledovaných parametrů ve srovnání s kontrolou bez vložky, resp. s vložkou opatřenou pouze aerací. Na druhé straně se však ukázalo jako problematické přesycení vody kyslíkem nad 160 %, kdy dochází k riziku „popálení“ žaber ryb.

2. Akvakultura a vliv rybí obsádky na ekosystém

XVII. Rybářská a ichthyologická konference



Klíčová slova: welfare ryb, rybářská kád', výlov rybníku, aerace a oxygenace, oxidativní stres.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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



Foto I. Experiment č. 1 – ryby ve variantě k



Foto II. Experiment č. 1 – ryby ve variantě v



Foto III. Experiment č. 6, varianta **k** – ryby uložené různými směry v kádí, patrný první neklid z nedostatku kyslíku



Foto IV. Experiment č. 6, varianta **v** – ryby uložené hlavou směrem k obvodu kádě a ocasem ke středu kádě



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



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

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



Foto V. Experiment č. 6, varianta o – patrný pohyb ryb v kruhu, po obvodu kádě



Foto VI., Ukázka typického troubení ryb, zde lína, v kádi při nedostatku kyslíku (při výlovu rybníka Stará Komora)