

ZMĚNY SPOTŘEBY KYSLÍKU A EXKRECE AMONIAKÁLNÍHO DUSÍKU U LÍNA OBECNÉHO (*TINCA TINCA*) V ZÁVISLOSTI NA MNOŽSTVÍ PROTEINU V KRMIVU

The influence of feed protein intake on Tench (Tinca tinca) ammonia production and consumption of oxygen

Š. LANG, R. KOPP, J. MAREŠ

Summary: Feed intake and satiation in fish are regulated by a number of factors, of which dissolved oxygen concentration (DO) is important. Since fish take up oxygen through the limited gill surface area, all processes that need energy, including food processing, depend on their maximum oxygen uptake capacity. Maximum oxygen uptake capacity relative to body weight in bigger fish is smaller than in smaller fish because the gill surface area is allometrically related to body weight. In this study, changes of DO concentration depending on body weight and different protein feed intake in tench were investigated.

The quantity of ammonia excreted by fish is related to the quantity of nitrogen supplied by the protein contained in feed. This experiment evaluated short term ammonia nitrogen production by adult tench fed rations with two different protein contents (31,0 % and 42,6 %).

Fish kept in two tanks (200 l) were used to determine total ammonia nitrogen (TAN) excretion at 5.5 - 8 hours postprandial. The TAN values of the 31.0 % protein feed were lower than that of the 42.6 % protein feed. Results shown that there were no significant difference in oxygen consumption between unfed fish and fish fed 31.0 % feed. The oxygen consumption of fish fed 42.6 % feed was significantly higher.

Obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě patří mezi nejdůležitější ukazatele ovlivňující chov ryb. Jeho význam narůstá v intenzivních akvakulturách, kde je chováno velké množství ryb v relativně malém množství vody a obsah kyslíku se tak často stává limitujícím faktorem prosperity chovu. Při poklesu obsahu kyslíku ve vodě lze u většiny ryb registrovat nechutenství, zpomalení růstu, zhoršení příjmu a využití krmiva.

Nároky na obsah kyslíku ve vodě jsou u jednotlivých druhů ryb různé. Svobodová a kol. (1987) udává optimální koncentraci O_2 ve vodě pro lososovité ryby v rozmezí 8 - 10 $mg.l^{-1}$. Při poklesu koncentrace O_2 pod 3 $mg.l^{-1}$ lze u těchto ryb pozorovat příznaky dušení. Optimální koncentrace O_2 ve vodě pro méně náročné ryby kaprovité se pohybuje v rozmezí 6 - 8 $mg.l^{-1}$. Fyziologické požadavky raných stadií jsou (zvláště z hlediska efektivního využívání potravy) vyšší než u dospělých ryb. Významný je rovněž vliv teploty, kdy se stoupající teplotou vody se zvyšuje i spotřeba kyslíku (Jirásek a kol. 1977).

Vedle dostatku kyslíku rozpuštěného ve vodě, se v podmínkách intenzivních chovů při použití krmiv s vysokým obsahem proteinů stávají hlavním faktorem ovlivňujícím kvalitu vody zplodiny dusíkového metabolismu. Amoniak je hlavním produktem metabolismu dusíku u ryb. Podle druhu ryb a podmínek prostředí je 60 – 90 % z celkového množství vylučovaného dusíku u kostnatých ryb vylučováno jako amoniak pasivním transportem po koncentračním spádu přes žábry, bez spotřeby energie pro transportní proces. Působení vysoké koncentrace amoniaku ve vodě snižuje přežití, zpomaluje růst a je příčinou různých fyziologických problémů. Amoniak se stává stresovým faktorem a stimuluje vylučování kortikosteroidních hormonů do krve (Tomasso, 1994).

Množství amoniaku může být limitujícím faktorem k opětovnému využívání vody. Znalost množství bílkovin v krmných směsích, které jsou efektivně metabolicky využity, by mohla redukovat množství vyloučeného amoniaku z nadměrně dodaného proteinu a tím také snížit náklady na krmiva (Brunty a kol., 1997). Proteiny v krmných směsích pro ryby jsou zdrojem amoniaku produkovaného do chovného prostředí a vyšší exkrece amoniaku má za následek jeho vyšší hodnoty ve vodě. Nicméně různé druhy ryb a různá věková stadia mají odlišné schopnosti využívání proteinů a také vztah mezi množstvím proteinu a exkrecí amoniaku se postupně mění s věkem ryb (Begum a kol., 1994).

Materiál a metodika

Jedinci lína obecného (*Tinca tinca*) pocházely z umělého výtěru Rybníkářství Pohořelice, a.s. DOzahájení sledování byly odchovány v pokusném zařízení oddělení rybářství a hydrobiologie s použitím kompletních krmných směsí. V průběhu pokusu byly ryby odchovávány v přípravných akváriích (200 l). Po adaptaci byly pro vlastní měření přeloveny do speciálních pokusných nádob s plovoucím víkem, které byly naplněny čistou, kyslíkem nasycenou, vodou o známém objemu (200 l). Víko umožňuje dokonalé uzavření nádoby proti kontaktu s vnějším prostředím. Před přidáním ryb byly v nádobách stanoveny základní fyzikálně-chemické ukazatele (pH, teplota vody, vodivost, obsah rozpuštěného kyslíku) vše přístrojem CyberScan PCD 650 (Eutech Instruments, USA).

Po nasazení ryb byly nádoby uzavřeny a v pravidelných intervalech (15 minut) byl stanovován obsah rozpuštěného kyslíku. Kyslík byl stanovován přístrojem CyberScan PCD 650 s kyslíkovou sondou umožňující stanovení rozpuštěného kyslíku bez nutnosti pohybu v měřeném médiu. Délka expoziční doby závisela na hmotnosti a počtu nasazených pokusných ryb a byla volena tak, aby na konci pokusu nekleslo nasycení vody kyslíkem pod

60%. Výrazné snížení obsahu kyslíku v závěrečné fázi by mohlo na ryby působit jako stresový faktor a zkreslit tím výsledek pozorování. Konstrukce nádoby dovoluje sledovat spotřebu kyslíku v pravidelných časových intervalech bez stresového působení na pokusné ryby.

Sledování probíhalo u ryb hladových (nekrmené po dobu tří dnů) a u ryb nakrmených (adaptace na příjem krmiva minimálně 7 dní) krmivem s různým obsahem proteinu. Měření probíhalo v pravidelných časových intervalech po nakrmení. Ke krmení pokusných ryb byly využity dvě experimentální kompletní krmné směsi vlastní receptury (31,0 % proteinu, 7,6 % tuku, 37,4 % sacharidů a 1,3 % vlákniny a 42,6 % proteinu, 8,1 % tuku, 25,1 % sacharidů a 2,1 % vlákniny). Výsledné hodnoty spotřeby rozpuštěného kyslíku jsou vyjadřovány v miligramech kyslíku na kilogram hmotnosti ryb za 1 hodinu.

Stanovení produkce amoniakálního dusíku probíhalo ve stejných nádobách jako sledování koncentrace kyslíku. Pro toto měření byly nádrže vybavené aerací. Bez vzduchování ryby kyslík vydýchaly vždy do 3,5 hodin.

Nekrmené ryby byly přeloveny do pokusných nádob a v půlhodinových intervalech po dobu 8 hodin byla sledována produkce amoniakálního dusíku indofenolovou metodou (Horáková a kol. 2007). Při experimentech s kompletní krmnou směsí byly ryby odchovávány v akváriích (200 l) a krmeny po dobu 7 dní před začátkem pokusu. Denní krmná dávka odpovídala 2% z hmotnosti obsádky a byla aplikována ve třech dílčích dávkách. Před vlastním pokusem byly ryby nakrmeny 1/3 denní dávky a 15 minut po nakrmení přeloveny do pokusných nádob kde byla v půl hodinových intervalech po dobu minimálně 5,5 hodiny sledovány změny obsahu amoniakálního dusíku ve vodě. Po ukončení sledování byla zjištěna hmotnost pokusných ryb a ryby byly přeloveny zpět do odchovných nádrží. Výsledné hodnoty produkce amoniakálního dusíku (TAN) jsou vyjadřovány v gramech dusíku na 1 kg krmiva.

Výsledky a diskuze

Teplota vody se v průběhu všech experimentů pohybovala v rozmezí 21,3 až 24,3 °C, pH v rozsahu 6,85 - 7,46, vodivost 92,8 až 99,9 mS . m⁻¹. Spotřeba rozpuštěného kyslíku u lina obecného bez krmení (průměrná hmotnost 154,4 g) se pohybovala při teplotě vody 21,8 °C kolem hodnoty 134,03 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹. Spotřeba kyslíku u lina obecného při krmení (2% z hmotnosti obsádky) krmiva s obsahem proteinu 31,0 % (průměrná hmotnost ryb 152,4 –

155,2 g) se pohybovala v rozsahu 131,4 až 139,2 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 21,3 - 23,4 °C. Spotřeba kyslíku u lína obecného při krmení (2 % z hmotnosti obsádky) krmiva s obsahem proteinu 42,6 % (průměrná hmotnost ryb 153,6 – 155,2 g) se pohybovala v rozsahu 193,6 až 202,1 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 22,1 - 23,5 °C. Naše výsledky nepotvrdily předpoklad nejnížší spotřeby kyslíku u hladových ryb, naopak ale bylo dosaženo spíše nižších hodnot spotřeby kyslíku u ryb krmených kompletní směsí s nižším obsahem proteinu oproti nenakrmeným rybám. To mohlo být způsobeno zvýšenou excitací hladových ryb, pro něž do té doby příchod člověka znamenal podávání krmiva. Byla potvrzena předpokládaná vyšší spotřeba kyslíku u varianty krmené s vyšším obsahem proteinu než u variant s nižším obsahem proteinu.

Zakes et. al. (2006) pozorovali u lína o průměrné hmotnosti 17,0 g spotřebu kyslíku od 100 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ (u ryb nekrmených) do 187 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ u ryb krmených krmivem s 55 % proteinu, 21 % sacharidů a 7 % vlákniny. Iwama a kol (1997) stanovili u tilapií *Oreochromis mossambicus* (průměrná hmotnost 110,8 g) při krmení kompletní krmnou směsí pro tilapie průměrnou spotřebu kyslíku 177,2 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 18,5-23,2 °C.

Na základě našich a publikovaných výsledků je zřejmé široké rozmezí spotřeby kyslíku u lína, které zjevně závisí na mnoha faktorech. Míru spotřeby kyslíku určuje hmotnost ryb, hustota obsádky, teplota vody, intenzita krmení, složení krmiva, fyzikálně chemické parametry vody, stres ryb aj. Mimo dobře popsané trendy snížení spotřeby kyslíku u lína s rostoucí průměrnou hmotností a u krmiv s vyšším obsahem sacharidů existuje celá řada faktorů, jejichž vliv na spotřebu kyslíku není zcela jednoznačný.

Množství amoniaku vylučovaného rybami je odhadováno na základě čistého využití proteinu (množství proteinu využitého rybami na přírůstek k množství proteinu dodaného v krmivu). Garling a Wilson (1976) udávají průměrnou hodnotu využití proteinu u ryb krmených kompletní krmnou směsí kolem 40 %.

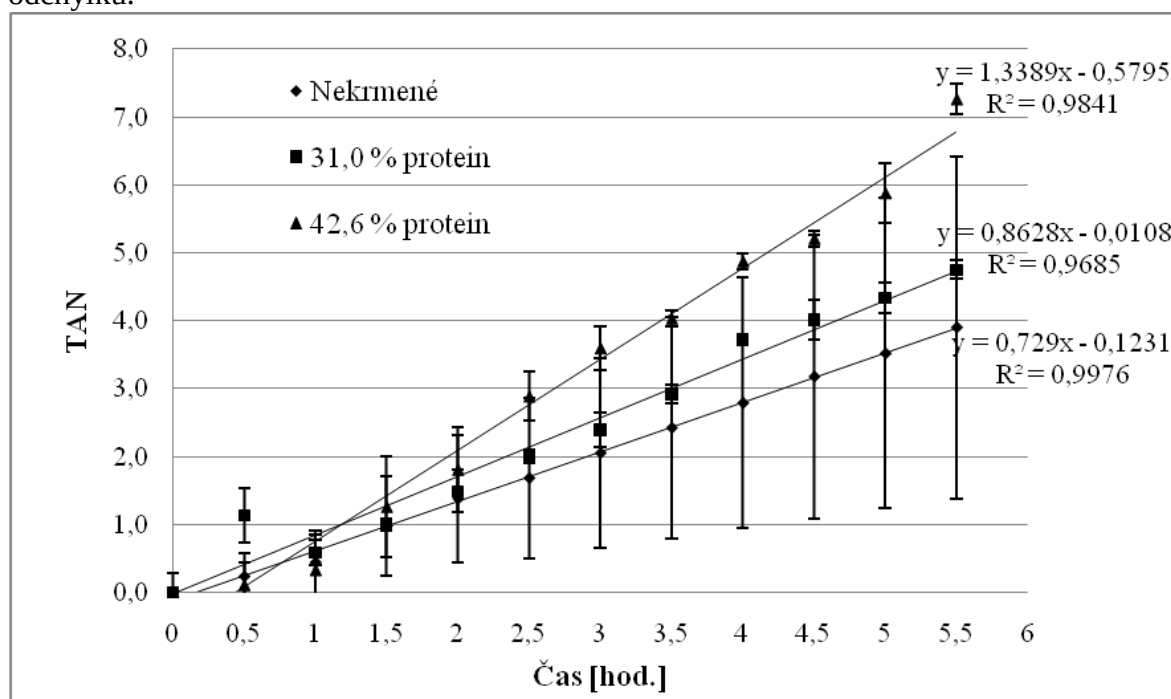
Brunty a kol. (1997) zjistili u tilapie nilské (*Oreochromis niloticus*) lineární vztah mezi zvyšujícím se obsahem proteinu v krmivu a exkrecí amoniaku, a to bez ohledu na zdroj proteinu. Naše výsledky jsou mírně nižší, což je dáno vyšší kusovou hmotností ryb a nižší teplotou vody v našem experimentu ve srovnání s výsledky Brunty a kol (1997). Porovnal výsledky lze pouze přibližně, Brunty neuvádí přesnou dobu měření TAN, rovněž u našich výsledků nelze předpokládat lineární průběh nárůstu hodnot TAN po celých 24 hodin.

Zakes a kol. (2001) sledovali vliv složení krmiva na exkreci amoniaku u juvenilního candáta (*Stizostedion lucioperca*) při odchovu na recirkulačním zařízení. Hodnoty amoniaku

se zvyšovaly do osmi hodin po nakrmení, poté se ustálily. Zakes (1998) zjistil závislost exkrece amoniaku na hmotnosti ryby. Množství vyloučeného amoniaku klesá s vyšší hmotností ryby. Zakes (1999) dále sledoval závislost vylučování amoniaku na teplotě prostředí. Exkrece byla vyšší při vyšší teplotě prostředí, a to jak u nakrmených ryb, tak i u ryb hladových.

Naše výsledky potvrdily závěry ostatních autorů o zvyšující se produkci amoniakálního dusíku u krmiv s vyšším obsahem proteinu. Porovnáním exkrece dusíku u ryb hladových a jednotlivých použitých krmných směsí, se jako výhodnější z hlediska využití proteinu jeví krmivo s vyšším obsahem proteinu (42,6%). Tento závěr ale nekalkuluje s cenou jednotlivých krmiv, rychlostí růstu ryb a hodnotou krmného koeficientu, což jsou faktory, které v konečném důsledku rozhodují o výběru konkrétního krmiva v praxi. Změny produkce TAN v závislosti na obsahu proteinu v krmivu znázorňuje graf č. 1.

Graf č. 1 Produkce amoniakálního dusíku TAN (g dusíku na 1 kg krmiva) u lína v závislosti na množství proteinu v kompletní krmné směsi. Chybové úsečky vyznačují směrodatnou odchylku.



Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“

uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a Interní grantové agentury MZLU v Brně (MP 6/2007) a Interní grantové agentury AF MZLU v Brně č. IG290131 „Změny fyzikálně-chemických parametrů vody v intenzivním chovu ryb“

Literatura

- BEGUM, N., N., CHAKRABORTY, S., C., ZAHER, M. (1994): Replacement of fishmeal by low - cost animal protein as a quality fish feed ingredient for Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. *Sci. Food. Agric.*, 64: 191-197
- BRUNTY, J., L., BUCKLIN, R., A., DAVIS, J., BAIRD, C., D., NORDSTELDT, R., A. (1997): The influence of feed protein intake on tilapia ammonia production. *Aquacultural Engineering* 16: 161-166
- GARLING, D., L., WILSON, R., P. (1976): Optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Nutrition* 106: 1368-1375
- HORÁKOVÁ, M. (eds.) (2007): Analytika vody. VŠCHT Praha 335 s.
- IWAMA, G., K., TAKEMURA, A., TAKANO, K. (1997): Oxygen consumption rates of tilapia in fresh water, sea water, and hypersaline sea water. *Journal of Fish Biology* 51, 5: 886-894
- JIRÁSEK, J., ADÁMEK, Z., PHA, N. (1977): Vliv různé potravy na spotřebu kyslíku u kapřího plůdku. In: *Živočišná výroba*, 22, 11: 833 - 838.
- SVOBODOVÁ, Z. (eds.) (1987): *Toxikologie vodních živočichů*. SZN, 232 s.
- TOMASSO, J., R. (1994): Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Rev. Fish. Sci.* 2, 4: 291-314
- ZAKEŠ, Z., DEMSKA-ZAKEŠ, K., JAROCKI, P., STAWECKI, K. (2006): The effect of feeding on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile tench *Tinca tinca* (L.) reared in a water recirculating system. *Aquaculture International* 14 (1-2), pp. 127-140
- ZAKES, Z., KARPINSKI, A. (1999): Influence of water temperature on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.) reared in a recirculating system. *Aquaculture Research*, 30: 109-114
- ZAKES, Z., SZKUDLAREK, M., WOZNIAK, M., KARPINSKI, A., DEMSKA-ZAKES, K. (2001): Effect of dietary protein: fat ratios on metabolism, body composition and growth of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.). *Czech J. Anim. Sci.*, 46, (1): 27-33
- ZAKES, Z. (1998): Effect of body weight on oxygen consumption and ammonia excretion by juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.) (Percidae) reared in recirculating water system. *Eifac. XX, Symp.* P 01: 32-33

Adresy autorů:

Doc. Dr. Ing. Jan Mareš, Ing. Radovan Kopp, PhD., Ing. Štěpán Lang, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství Agronomické fakulty Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, Zemědělská 1, 602 00, Brno. E-mail: mares@mendelu.cz, fcela@seznam.cz, stepanlang@klikni.cz.