

ZMĚNY SPOTŘEBY KYSLÍKU A EXKRECE AMONIAKÁLNÍHO DUSÍKU U TILAPIE NILSKÉ (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) V ZÁVISLOSTI NA MNOŽSTVÍ PROTEINU V KRMIVU.

*The influence of feed protein intake on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) ammonia production and consumption of oxygen.*

KOPP R., LANG, Š., ZIKOVÁ A., MAREŠ J.

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 Nile tilapia 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 tilapia fed rations with two different protein contents (23% and 44%). Fish kept in two tanks (200 l) were used to determine total ammonia nitrogen (TAN) excretion at 0.5-8 hours postprandial. The TAN values of the 23% protein feed were lower than that of the 44% protein feed. Results corresponded with calculated values of the total ammonia nitrogen excreted from fish.

Úvod

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

Amoniak je hlavním konečným 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 žábra, bez spotřeby energie pro transportní proces. Působení vysoké koncentrace amoniaku 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 vzhledem k jeho negativnímu působení na rybí organismus při vyšších koncentracích. Znalost množství bílkovin v krmných směsích, které jsou efektivně metabolicky využity, by mohlo 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

V experimentálním pokusném zařízení oddělení rybářství a hydrobiologie byly pokusné ryby (Tilapie nilská - *Oreochromis niloticus*) získané z rybářství Tisová nejprve adaptovány na nové podmínky v kruhových nádržích pod dobu 30 dnů. Po adaptaci byly přeloveny do speciálních pokusných nádob s pohyblivým víkem, které byly naplněny čistou a kyslíkem nasycenou vodou o známém objemu. Víko umožňuje dokonalé uzavření nádoby bez 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.

Po nasazení ryb byly nádoby uzavřeny a v pravidelných intervalech (15 minut) byl stanovován obsah rozpuštěného kyslíku. Kyslík byl stanovován přístrojem CyberScan PCD 650 (Eutech Instruments, USA) 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 pokles rozpuštěného kyslíku ve vodě nepřesahoval 30% počáteční koncentrace. 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 min. 3 dny) a u ryb nakrmených (adaptace na příjem krmiva min. 7 dní) krmivem s různou úrovní proteinu v pravidelných časových intervalech po nakrmení. Ke krmení pokusných ryb byly využity dvě kompletní krmné směsi, experimentální krmná směs vlastní receptury (23% protein, 45% uhlohydráty, 10% tuk, 5% vláknina) a krmná směs BIOMAR AQUALIFE 14 (44% protein, 21% uhlohydráty, 14% tuk, 5% vláknina). 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. Hladové ryby (nekrmené min. 3 dny) byly přeloveny do pokusných nádob a v hodinových 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 kruhových nádržích a krmeny min. 7 dní před začátkem pokusu (2% z hmotnosti obsádky) tři krát denně. 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 8 hodin sledována produkce amoniakálního dusíku. 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 bylo v rozsahu 7,80-8,46, vodivost 92,8 až 99,9 mS . m⁻¹. Spotřeba rozpuštěného kyslíku u tilapie nilské bez krmení (průměrná hmotnost 137,1 g) se pohybovala kolem hodnoty 124,7 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 22,4 °C. Spotřeba kyslíku u tilapie nilské při krmení (2% z hmotnosti obsádky) krmiva s obsahem proteinu 24% (průměrná hmotnost ryb 102,7-129,0 g) se pohybovala v rozsahu 175 až 277 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 21,3-23,4 °C. Spotřeba kyslíku u tilapie nilské při krmení (2% z hmotnosti obsádky) krmiva s obsahem proteinu 44% (průměrná hmotnost ryb 125,3-134,1 g) se pohybovala v rozsahu 172 až 207 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹ při teplotě vody 22,1-23,5 °C. Naše výsledky potvrdily předpoklad nejnižší spotřeby kyslíku u hladových ryb, naopak ale bylo dosaženo spíše nižších hodnot spotřeby kyslíku u ryb krmených kompletní směsí s vyšším obsahem proteinu oproti variantě s nižším obsahem proteinu.

Shiau a Cheng (1999) zjistili u křížence *Oreochromis niloticus* x *O. aureus* při krmení (2% z hmotnosti obsádky) krmiva s obsahem proteinu 24-32% (průměrná hmotnost 3,24 g) spotřebu kyslíku v rozmezí 155,5-292,8 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹. Iwama a kol (1997) stanovili u *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. Lei (2002) zjistil u křížence *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* (hmotnost 1,57-52,41 g) spotřebu kyslíku v rozsahu 130-410 mg O₂ . kg⁻¹ . h⁻¹.

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

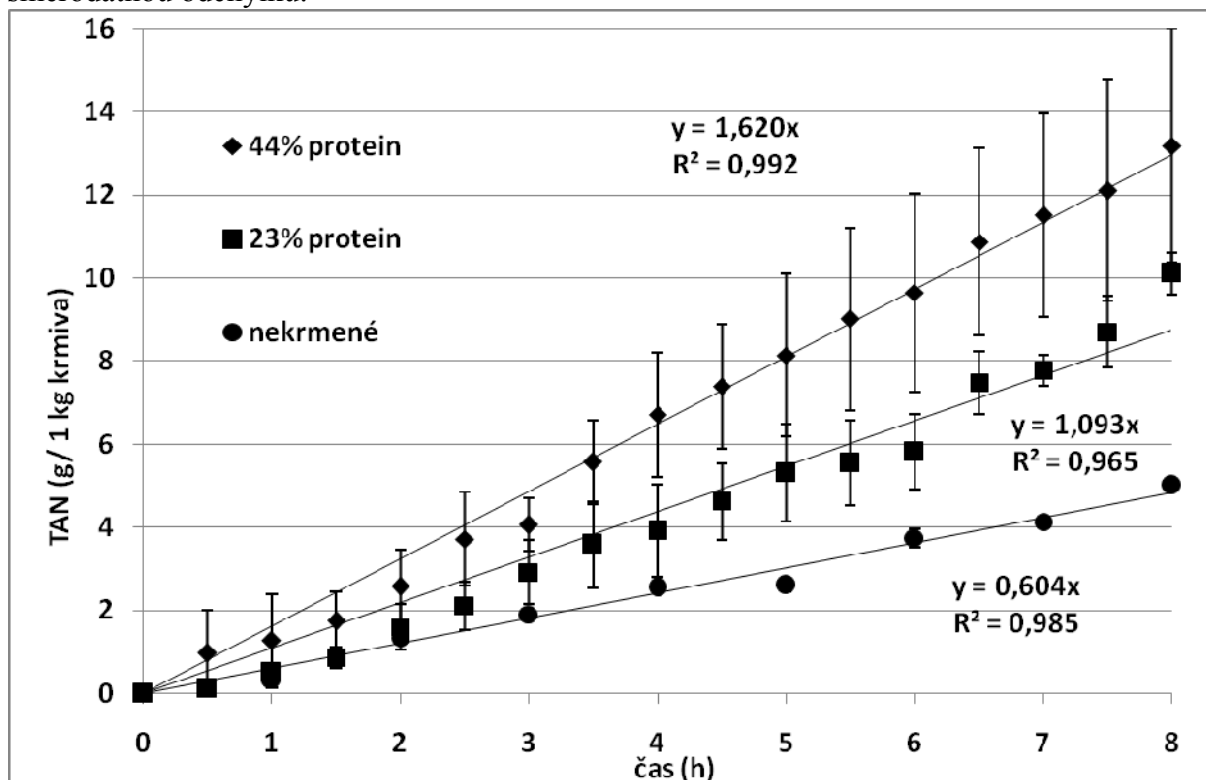
Množství amoniaku vylučovaného rybami je odhadováno na základě čistého využití proteinu (množství proteinu využitého rybami na přírůstek k množství proteinu dodaného v krmivu). Garling a Wilson (1976) udávají průměrnou hodnotu využití proteinu u ryb krmených kompletní krmnou směsí kolem 40%. V závislosti na množství proteinu v krmivu pak lze kalkulovat s teoretickou hodnotou vylučovaného dusíku (TAN) rybami na základě jednoduchého výpočtu (Lawson 1995). V případě použití vlastního experimentálního krmiva s 23% proteinu je předpokládán TAN 22,08 g N . kg⁻¹ krmiva, u

krmné směsi BIOMAR AQUALIFE 14 se 44% proteinu je předpokládán TAN 42,24 g N . kg⁻¹ krmiva. Zjištěná produkce amoniakálního dusíku vyjádřená jako TAN je uvedena v grafu č. 1.

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 hmotnosti ryby na exkreci amoniaku. 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.

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



Naše výsledky potvrdily závěry ostatních autorů o zvyšující se produkci amoniakálního dusíku u krmiv s vyšším obsahem proteinu. Porovnáním teoretické hodnoty TAN, exkrece dusíku u ryb hladových a jednotlivých použitých krmných směsí, se jako

výhodnější z hlediska využití proteinu jeví krmivo s vyšším obsahem proteinu (44%). Tento závěr ale nekalkuluje s cenou jednotlivých krmiv, což je faktor, který v konečném důsledku má výrazný podíl na výběru konkrétního krmiva.

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 (AF MP 6/2007).

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. *J. 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.
- LAWSON, T., B. (1995): Fundamentals of aquacultural engineering. An International Thomson Publishing Company, 355 s.
- LEI, S. (2002): Effect of salinity and body weight on the oxygen consumption of *Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*. *Chinese J. of Applied Ecology* 13, 6: 739-742
- SHIAU, S., Y., CHENG, D., J. (1999): Ammonia excretion and oxygen consumption of tilapia are affected by different carbohydrate ingestion. *Fisheries Science* 65, 2: 321-322
- 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
- 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 systém. *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 systém. *Eifac*. XX, Symp. P 01: 32-33

Adresy autorů:

Ing. Radovan Kopp, Ph.D., Bc. Štěpán Lang, Ing. Andrea Ziková, Ing., Doc. Dr. Ing. Jan Mareš, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 613 00 Brno, Česká republika, Botanický ústav Akademie věd (CCT, RECETOX), Kamenice 3, 625 00 Brno, Česká republika, e-mail: fcela@seznam.cz, andrea.zikova@seznam.cz, mares@mendelu.cz,