

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Uroš R. Ljubobratović

**Uticaj porekla matica, gustine nasada i načina
privikavanja na koncentrovanu hranu na uspeh
veštačkog mresta, gajenje larvi i mlađi smuđa
(*Sander lucioperca* L., 1758)**

doktorska disertacija

Beograd, 2017.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Uroš R. Ljubobratović

**The effect of broodstock origin, stocking
density and weaning strategies on the success of
artificial reproduction, larviculture and
juvenile on-grow of pikeperch (*Sander
luciperca* L., 1758)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017.

Komisija za ocenu i odbranu:

Mentor: dr Zoran Marković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu–Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije: dr Vesna Poleksić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu–Poljoprivredni fakultet

dr Marko Stanković, docent
Univerzitet u Beogradu–Poljoprivredni fakultet

dr Božidar Rašković, docent
Univerzitet u Beogradu– Poljoprivredni fakultet

Dr Mirjana Lenhardt, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu– Institut za multidisciplinarnu studiju

Datum odbrane: _____

Pre šest godina počeo sam putovanje zvano akvakultura. Na samom početku uvideo sam kako je bavljenje ovom praksom prilično zahtevan zadatak. Stoga, ubrzo sam naučio da poštujem svaku osobu voljnu da radi kao uzgajivač riba, te da budem zahvalan na svakoj informaciji koju su kolege spremne da podele kao i da prenosim znanje dalje. Iako je sama akvakultura zahtevna, zadatak uzgoja smuđa se čini toliko izazovnim da je i dalje često okarakterisan kao nemoguć. To čini poslednjih šest godina posvećenih ovom zadatku i predstojeće stranice dragocenim, uprkos činjenici da je ova teza na samom početku studija koje su potrebne za ozbiljnu industriju. Zadatak kao što je istraživanje uzgoja smuđa nikad ne bi mogao biti urađen bez pomoći iskusnih ljudi voljnih da dele svoje znanje. S obzirom da je grupa ljudi koja je pomogla ove oglede internacionalna, zahvalnica koja sledi biće na srpskom i engleskom jeziku.

Pre svega, želeo bih da se zahvalim svom mentoru Zoranu Markoviću, koji me je prihvatio u svoju istraživačku grupu i borio se za moj upis na doktorske studije kao i omogućio njihovo završavanje. Smatram svoj život ispunjenim bivajući istraživač u oblasti akvakulture, a bez Zorana ne bih mogao postati ni istraživač ni uzgajivač riba. Nadalje, uputio bih zahvalnost Vesni Poleksić, koja je, po mom mišljenju, sama definicija pravog naučnog radnika. Zahvalan sam za sve njene govore, pogotovo one ljubazne i učtive naučne razgovore kada sam bio na samom početku svog istraživačkog rada, bilo je uvek zadovoljstvo i olakšanje diskutovati bilo koju naučnu temu. Takođe, uvek ću joj ostati zahvalan što mi je otvorila vrata internacionalnog istraživanja. Zahvalan sam Marku Stankoviću za svu pomoć oko doktorskih studija, čime mi je omogućio završavanje teze u zemlji u prilično nezgodnoj situaciji živeći u inostranstvu. Kada sam upoznao Božidara Raskovića činilo mi se da sam dobio saradnika za života, i osećaj je i dalje isti. Zbog sve njegove pomoći i volje da saraduje ostajem radostan i zahvalan i nadam se da će naša saradnja trajati za mnoge buduće oglede. Želeo bih da uputim zahvalnost Mirjani Lenhardt koja me je primila u svoju istraživačku grupu i time omogućila moja buduće istraživanje. Ovih pet divnih osoba su glavni razlog zbog kog sam postao istraživač. Hvala vam!

Želeo bih da se zahvalim svim ljudima koji su ili su bili deo pomenute istraživačke grupe za akvakulturu Univerziteta u Beogradu: Milan Spasić, Dalibor Vukojević, Miloš Pušica, Ivana Živić, Zorka Dulić, Renata Relić, Katarina Bjelanović, Zorica Radović, Ljubica Todorić, Stefan Skorić, Marija Smederevac-Lalić. Ovi ljudi su me prihvatili u svoju grupu u kritičnom momentu moje profesionalne karijere i za to im zauvek ostajem zahvalan kao i za njihovu безусловnu pomoć.

Internacionalna grupa iskusnih istraživača odigrala je vrlo važnu ulogu u mom istraživanju i zbog njihove pomoći ova teza je to što jeste danas, a ja mogu sebe da nazovem istraživačem. Ovi ljudi su značajno oblikovali moj naučni pogled i smisao. Na samom početku mog rada na smuđu, prilično spontano, započeo sam konverzaciju putem elektronske pošte sa osobom koju smatram najvećim istraživačem iz oblasti veštačkog mresta riba iz porodice percida, Daniel Žarski. Od tada, on je uvek bio od velike pomoći u prilikom svake od mojih brojnih nedoumica bilo tehnološke ili metodološke prirode. Svi njegovi saveti, kritike i komentari omogućile su da većina eksperimenata budu pretvoreni u stranice koje slede. U okviru mog prvog istraživačkog projekta upoznao sam osobu koja je najvažnija figura u mom dosadašnjem radu, András Rónyai. On je prvi naučni radnik sa kojim sam radio i koji je iskreno cenio moj prepirački karakter i za koga glasna naučna diskusija predstavlja nista više nego neizostavni deo ozbiljnog istraživačkog rada. On je omogućio moje uključanje u istraživačku grupu pod njegovim vođstvom kao i većinu istraživanja koja su sledila. I dalje ga smatram najentuzijastičnijim istraživačem sa kojim sam imao sreću da radim i do kraja moje karijere on će mi biti uzor kako poštovati životnu priliku biti istraživač. Osoba koju nisam imao sreću da lično upoznam, a ko je bio veoma uključen u moje istraživanje je Robert Summerfelt. Bob je bio uvek tu da podeli znanje, iskustvo, radove i kontakte. Njegovo istraživanje i naša komunikacija su mi značajno pomogli da razumem biologiju i ekologiju moje vrste od interesa. Veoma poštujem svu njegovu pomoć, savete i komentare i nadam se da će naša konverzacija trajati u godinama koje dolaze.

Grupa ljudi radila je sa mnom rame uz rame u svim zahtevnim zadacima mresta i kulture larvi smuđa, često radeći u prilično čudnim dobima dana i noći. Balázs Kucska je bio prvi istraživač sa kojim sam saradivao u ovoj oblasti, ubrzo postavši moj blizak prijatelj. Njemu odajem značajno priznanje za trenutno stanje moje karijere i to nikad neće biti zaboravljeno. U momentima kad sam sumnjao da li ću pronaći još jedan pravi entuzijazam za zadatak uzgoja smuđa, upoznao sam Péter Gézu, ko je bio moj glavni saradnik u sprovedenim ogledima. On nikada nije dovodio u pitanje da li da učestvuje potpuno u našim često problematičnim istraživačkim zadacima. Stoga, za svu njegovu pomoć i iskrenu korisnu kritičnost veoma sam zahvalan. Vrlo je nezgodno sa nekom osobom deliti privatni i poslovan život i zaista posebna povezanost mora da postoji kako takav život ne bi bio opisan kao konfliktan, posebno shodno mojoj neobičnoj srčanosti prilikom istraživanja. Tijana Ristović, iako moj životni saputnik, uspela je da istrpi svu moju nesavršenost i bila u stanju da bude uz nas u sva ona gluva doba noći prilikom eksperimenata o mrestu smuđa. Njena podrška je

presudan detalj zbog kog sam svoje istraživanje sproveo do kraja i za to joj ostajem zahvalan. Bitan momenat u mom istraživačkom radu je bio početak komunikacije sa proizvođačima. U slučaju vrlo mlade i nerazvijene industrije kao što je uzgoj smuđa, bilo je zaista teško naći proizvođača otvorenog za komunikaciju. Međutim, imao sam sreću i čast da upoznam Horváth Zoltána. On i njegova porodica imali su poverenja u moje često radikalne ideje. Kao stranac, teško je ostvariti zdravu komunikaciju na zvaničnom jeziku, ali nakon godina poznanstva sa ovim divnim ljudima smatram ih svojim iskrenim prijateljima i veoma bitnim delom mog dosadašnjeg života i karijere. Posebna osoba koja je bila uvek tu za mene tokom doktorskih istraživanja bilo poslovno ili privatno u svakom od kritičnih momenata je András Peteri. Pored toga što je jedna od najljubaznijih osoba koju sam imao priliku da upoznam, on je najbolji istraživač koji povezuje nauku i praksu sa kojim sam imao zadovoljstvo da saradujem. Povrh svega, tu je i grupa ljudi koji su bili tu da pomognu i asistiraju tokom mog istraživanja i njihova pomoć je izuzetno cenjena: Endre Balogh, Svetlana Lengyel, Tibor Feledi, Sándor Zsuzsanna, Vanda Percze, István Csengeri, Endre Janurik, Galina Jeney, Molnár Zsuzsanna i Lóvasz Andrea. Za svo vaše uloženo vreme, napor, volju i strpljenje sam vam veoma zahvalan!

*Svo moje istraživanje ne bi bilo urađeno bez odobrenih projektnih sredstava koja su finansirala moj rad i ogledni materijal. Na početku svojih doktorskih studija učestvovao u dva projekta finansirana od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije: “Unapređenje proizvodnih kapaciteta šarana (*Cyprinus carpio* L.) programima ishrane i selekcije” (TR 31075) i “Ribe kao bioindikatori stanja kvaliteta otvorenih voda Srbije” (OI 173045). Moj prvi istraživački projekat “Unapređenje mresta smuđa” (0045/03/06/18) je bio finansiran u okviru EU FP7 projekta AQUAEXCEL (262336). Posle toga, moj rad je finansiran kroz EU FP7 projekat AQUARED POT (316266). Dve studije u okviru ove teze su bile finansirane od strane Ministarstva poljoprivrede Republike Mađarske u okviru projekta “Unapređenje veštačkog mresta ekonomski bitnih vrsta iz porodice percida (smuđ, bandar) uz poseban osvrt na geografsku distribuciju”. Stoga, iskreno priznajem značaj svih pomenutih projekata i odgovornih tela za finansijsku podršku mog rada.*

Iskreno sam zahvalan svim kolegama Istraživačkog instituta za ribarstvo i akvakulturu NARIC HAKI kao i svim stanovnicima grada Sarvaša za njihovu ljubaznost, pomoć i prihvatanje u njihovu zajednicu. Hvala vam!

Konačno, uz sav nemir koji mi je doneo život nakon diplomiranja, ne bih opstao kao pristojna osoba bez ogromne podrške moje porodice i bliskih prijatelja. Oni su bili uvek uz mene da me ohrabre da nastavim dalje i značajan su razlog zbog koga ovo danas pišem.

Iskreno,

Uroš Ljubobratović.

Six years ago I started a journey called aquaculture. At the very beginning, I have realized that it is rather demanding task to practice this profession. Thus, soon I have learned to respect every person willing to work as an aquaculturist, to be grateful for every information colleagues are willing to share and to share the knowledge further. Although aquaculture itself is demanding, task of pikeperch rearing appears to be so challenging that still it is often considered as impossible. Therefore, although this thesis is still at the very beginning of the studies needed for serious industry, it makes last six years dedicated to this task and following pages more precious. Such a task as is the research in pikeperch culture could never be finished without help of experienced people willing to share their knowledge. With respect to an international crew of people which took part in these trials, the following acknowledgement will be addressed on both English and Serbian language.

First of all, I would like to thank my mentor Zoran Marković, who accepted me in his research group and fought for my enrolment in PhD studies as well as made it possible for me to finish it. I consider my life fulfilled being a researcher in the field of aquaculture, and neither researcher nor aquaculturist I could ever become without Zoran. Further, I would like to address my gratitude to Vesna Poleksić, who is, by my opinion, just the very definition of the true scientific worker. I am very grateful for all her talks, especially for all those kind and respectful scientific chats when I was just at the very beginning of my research work, it was always a joy and relief to discuss any scientific matter with her. Likewise, I will be always thankful to her for bringing me into the world of international research. To Marko Stanković I am grateful for all his help with my PhD issues, for making possible finishing my thesis in country in a rather difficult situation living abroad. Meeting Božidar Rasković seemed by then, and still does, like having the fellow researcher for life and to all his help and willingness to collaborate I remain very joyful and grateful and hope that our collaboration will last for many trials to come. I would like to address great gratitude to Mirjana Lenhardt for accepting me in her research group thus enabling my further research. These five great persons are the main reason I could ever become a researcher. Thank you!

I would like to address gratitude to all the people who are or have been part of the mentioned aquaculture research group of University of Belgrade: Milan Spasić, Dalibor Vukojević, Miloš Pušica, Ivana Živić, Zorka Dulić, Renata Relić, Katarina Bjelanović, Zorica Radović, Ljubica Todorić, Stefan Skorić, Marija Smederevac-Lalić. These people accepted me in their group in a rather critical moment of my professional career and I will always grateful for that to them as well as for all of their unconditional help.

International group of experienced researchers played a very important role in my research and due to their great help this thesis is what it is today and I am able to call myself researcher. These people significantly shaped my scientific view and sense. At the very beginning of my work on pikeperch, rather spontaneously, I had great fortune to start the email conversation with the person who I consider greatest researcher in a field of artificial reproduction of percid fish, Daniel Zarski. Ever since, he was always of great help in any of my numerous troubles of either technological or methodological nature. All his suggestions, critics and comments facilitated most of the trials to be shaped into the following pages. In the frame of my first project I met the person who is the most important figure in my so far research work, András Rónyai. It was the first time I have worked with scientific worker who sincerely appreciated my arguing character and with whom laud research discussion was nothing but inevitable part of serious research work. He made it possible for me to join research group under his leadership and most of the research that followed have been enabled by him and his trust in my devotion. Still, I consider him the most enthusiastic research worker I had a fortune to work with and until the end of my career he will be role model to follow how to respect and nourish the life's gift to be a researcher. The person who I had no luck to meet personally and who was very much part of my research is Robert Summerfelt. Bob was always there to share his knowledge, experience, papers and contacts. His research and our communication assisted me greatly to understand the biology and ecology of my targeted species. I greatly appreciate all his help, advices and comments and hope that our conversation will last for a years to come.

Group of people worked with me shoulder to shoulder in all demanding tasks of pikeperch reproduction and larviculture, often working in a rather odd working hours. Balázs Kucska was a first researcher I worked with on this issue who very soon became my close friend. He is very much to be acknowledged that I am at the present stage of my career and it will never be forgotten. In a moments when I doubted in finding another real enthusiasm for the task of pikeperch culture, I have met Géza Péter, who was my main fellow researcher in the conducted trials. For him, it was never a question whether to participate fully in our often problematic research tasks. Thus, for all his assistance and sincere helpful criticism I am very grateful. It is rather uncomfortable to share both private and professional life with someone and indeed special bind needs to exist so such life would not be characterized as conflicting, especially with regard to my unusual eagerness during research. Tijana Ristović, although my life companion, managed to withstand all my

imperfectness and was capable to to be with us in all those deadly nightshades during trials on pikeperch reproduction. Her support is a crucial detail which brought my PhD research to the end and I remain grateful for it. An important point of my research work was the beginning of the communication with producers. In case of very young and undeveloped industry such as pikeperch culture, it was difficult to find a pikeperch breeder opened for communication. However, I had a luck and honor to meet Zoltán Horváth. He and his family always had confidence in my, often radical, ideas. As a foreigner it is very difficult to make a healthy communication on an official language, but after years of knowing these great people I consider them true friends and a very important point of my so far career and life. Special person who was always there for me during PhD research either professionally or privately in any of the critical moments is András Peteri. Besides being one of the kindest persons I have ever met, he is the best researcher to connect research and industry I had a pleasure to collaborate with. Moreover, there is a group of people who were there to help and assist during my research and their help is greatly appreciated: Endre Balogh, Svetlana Lengyel, Tibor Feledi, Gyula Kovács, Sándor Zsuzsanna, Vanda Percze, István Csengeri, Endre Janurik, Galina Jeney, Molnár Zsuzsanna and Lóvasz Andrea. For all your invested time, effort, willingness and patience I am very thankful!

*All my research would not have been done without grants which financed my work and trial materials. At the beginning of my PhD studies I took part in two projects financed by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia: “Improvement of production capacities of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with nutrition and selection programs” (TR 31075) and “Fishes as water quality indicators in open waters of Serbia” (173045). My first research project “Improved pikeperch propagation” (0045/03/06/18) was financed in the frame of EU FP7 project AQUAEXCEL (262336). Later on, my work was financed through EU FP7 project AQUARED POT (316266). Two studies in frame of the thesis have been financed by the Hungarian Ministry of Agriculture in the frame of project “Improvement of artificial propagation of economically important percid fish species (pikeperch, perch) with special regards to geographical distribution”. Thus, I truly acknowledge all mentioned projects and entities behind for financial support of my work.*

I am sincerely grateful to all colleagues at Research Institute for Fisheries and Aquaculture NARIC HAKI as well as to citizens of Szarvas for all their kindness, help and acceptance in their community. Thank you!

Finally, with all the turbulence that life after graduation has brought to me, I would not stand as decent person without great support of my family and close friends. They were there to encourage me to go further and they are very much reason I am writing this today.

Sincerely,

Uroš Ljubobratović.

Uticaj porekla matica, gustine nasada i načina privikavanja na koncentrovanu hranu na uspeh veštačkog mresta, gajenje larvi i mlađi smuđa (*Sander lucioperca* L., 1758)

Rezime: Akvakultura je sektor proizvodnje hrane u svetu sa najbržim rastom. Međutim, uzgoj vodenih životinja je i dalje na daleko nižem stepenu razvoja u odnosu na uzgoj kopnenih životinja. S druge strane, iako je globalni trend proizvodnje u konstantnom rastu, evropska slatkovodna akvakultura beleži stagnaciju u poslednje dve decenije. Radi unapređenja proizvodnje slatkovodnih organizama na starom kontinentu, predožena su dva pravca: pratiti način razvoja gajenja kopnenih životinja i usredsrediti se na mali broj vrsta; ili pratiti princip diverzifikacije, pre svega gajenjem novih vrsta. Kao jedan od glavnih kandidata za diverzifikaciju opisan je smuđ. Gajenje smuđa u intenzivnom sistemu vezano je za recirkulacioni akvakulturni sistem (RAS), koji omogućava visoku kontrolu parametara proizvodnje. Osnovni uslov gajenja nove vrste u RAS-u je upravljanje njenim životnim ciklusom. Stoga, prvi zadatak pri uzgoju smuđa u RAS-u jeste definisanje tehnoloških parametara za stabilnu proizvodnju mlađi pogodne za intenzivan uzgoj. U tom smislu, početne studije su fokusirane na veštački mrest, uzgoj larvi i mlađi. Većina prethodno objavljenih studija o veštačkom mrestu smuđa koristile su divlje matice kao osnovni materijal. Međutim, korišćenje divljih matica ostavlja životni ciklus otvoren. Nadalje, za potrebe uzgoja u intenzivnom sistemu, osnovni preduslov jeste da mlađ konzumira industrijsku koncentrovanu hranu. U slučaju smuđa, opisane su dve tehnologije proizvodnje mlađi naviknute na suhu hranu - proizvodnja mlađi isključivo u RAS-u; i proizvodnja mlađi kombinacijom ekstenzivnog jezerskog sistema i RAS-a. Prethodno objavljene studije o intenzivnom uzgoju larvi smuđa bavile su se optimalnim danom početka tranzicije ishrane larvi sa žive na suhu hranu. Međutim, strategija ishrane, odnosno način prelaska sa žive na suhu hranu nisu bile predmet njihovog istraživanja. Takođe, nekoliko objavljenih studija opisalo je navikavanje jezerski uzgojene mesečne mlađi smuđa na koncentrovanu hranu, međutim, mnoga pitanja sa aspekta tehnologije, ishrane i porekla mlađi neophodna za stabilizaciju ovog proizvodnog procesa ostala su nerešena. U saglasnosti sa opisanim problemima, osnovni cilj istraživanja u okviru ove disertacije je da kroz četiri studije unapredi tehnologiju proizvodnje mlađi smuđa pogodne za intenzivni uzgoj u RAS-u.

U prvoj studiji poređen je uspeh veštačkog mresta matica gajenih u RAS-u i divljih matica. Obe grupe prethodno su zimovale u spoljašnjim jezerskim objektima. Svaka grupa

sastavljena od šest ženki i četiri mužjaka veštački je mrešćena nakon hormonske indukcije humanim horionskim gonadotropinom. Pored osnovnih parametara mrešta, ocenjeni su masno-kiselinski sastav suvih jaja i mortalitet larvi tokom prve nedelje egzogene ishrane. Osim značajno kraćeg vremena latencije kod RAS ženki, nije bilo statistički značajnih razlika u osnovnim parametrima uspeha mrešta između grupa. Masno-kiselinski sastav suvih jaja je bio prilično sličan između grupa, međutim u frakciji fosfolipida pronađena je statistički značajna razlika u odnosu EPA/ARA (eikosapentanoična kiselina; C20:5n-3 / arahidonska kiselina; C20:4n-6) koji je u proseku bio 5 puta viši kod RAS riba ($5,1 \pm 3,8$) u odnosu na divlje ribe ($0,9 \pm 0,3$). Značajno niži mortalitet larvi zabeležen je kod divljih riba ($13,4 \pm 1,7$ % kod divljih i $27,0 \pm 4,9$ % kod matica uzgojenih u RAS-u).

Druga studija posvećena je uticaju strategija ishrane tokom perioda tranzicije ishrane sa žive ne koncentrovane hrane na preživljavanje, kanibalizam i rast larvi smuđa. Dve strategije ishrane su ispitivane počevši od petnaestog dana po valjenju larvi: Prihrana i Dohrana. U tretmanima Prihrane postepeno je smanjivana količina dnevno datih nauplija artemije za 25 % u četvorodnevnoj tranziciji, odnosno 14 % u sedmodnevnoj tranziciji. U tretmanima Dohrane, redovni obroci artemije su naglo ukinuti iz ishrane larvi i živa hrana je davana isključivo kao poslednji dnevni obrok u toku četiri, odnosno sedam dana tranzicije sa žive na koncentrovane hrane. Tako je svaka strategija ispitana u dva tretmana čineći ukupno četiri tretmana, svaki sastavljen od tri replikacije. Strategija prihrane je dovela do povoljnijih rezultata u smislu manjeg mortaliteta, bržeg rasta i višeg prinosa. U pogledu trajanja tranzicije ishrane, sedmodnevna tranzicija je rezultirala boljim rastom i preživljavanjem u odnosu na četvorodnevno privikavanje larvi na koncentrovane hrane.

Treća studija ocenila je uticaj gustine nasada, obogaćivanja prirodne hrane vitaminom C i načina hranjenja (ručno ili mehanički) na uspeh navikavanja na koncentrovane hrane jezerski gajene mlađi smuđa. Mlađ je izlovljena iz jezera 42 dana nakon oplodjenja i transportovana u eksperimentalni RAS. Radi ispitivanja uticaja gustine nasada, ribe su nasade u tri različite početne gustine od 0,5, 1 i 1,5 riba po litru, dok se ogled o uticaju obogaćivanja žive hrane i načina hranjenja sastojao iz dva dvo-grupna poređenja sa jednim zajedničkim kontrolnim tretmanom. Svaki tretman u oba ogleda realizovan je kroz tri replikacije. Analiza varijanse nije pokazala statistički značajne razlike u ocenjenim parametrima testiranih gustina nasada. Međutim, Pirsonov koeficijent korelacije pokazao je snažnu pozitivnu zavisnost između gustine nasada i uspeha navikavanja na koncentrovane hrane ($r^2 = 0,829$, $p = 0,006$). Obogaćivanje prirodne hrane vitaminom C povećalo je

preživljavanje, uspeh navikavanja na koncentrovanu hranu i prirast, međutim bez statistički značajnih razlika ($p > 0,05$). Takođe, nisu uočene statistički značajne razlike u uspehu navikavanja na koncentrovanu između ručnog i mehaničkog hranjenja. ($p = 0,860$).

Poslednja studija posvećena je poreklu mlađi smuđa i mogućem uticaju korišćenja gajenih matica na uspeh proizvodnje mlađi pogodne za RAS uzgoj. Studija je izvedena u dva ogleda. Prvi ogled se bavio uspehom navikavanja ekstenzivno proizvedene mesečne mlađi poreklom od intenzivno gajenih i divljih matica. Ogled je realizovan u dve etape, kroz period navikavanja na koncentrovanu hranu u trajanju od 12 dana i devetodnevni period nakon navikavanja na koncentrovanu hranu. Pri starosti od tri meseca, mlađ naviknuta na koncentrovanu hranu je podvrgnuta drugom ogledu gde su kroz šestonedeljni odgoj ocenjeni parametri rasta dveju opisanih grupa različitog roditeljskog porekla. Prema dobijenim rezultatima, korišćenje mlađi poreklom od gajenih matica nije poboljšalo uspeh navikavanja jezerski gajenih mesečnjaka na koncentrovanu hranu. Međutim, tromesečna mlađ poreklom od gajenih matica prikazala je značajno više parametre rasta izražene kroz specifičnu stopu rasta ($3,7 \pm 0,0 \text{ \% dan}^{-1}$ kod mlađi poreklom od gajenih matica i $3,3 \pm 0,1\% \text{ dan}^{-1}$ kod mlađi poreklom od divljih matica) i dnevnu stopu rasta ($0,45 \pm 0,00 \text{ g dan}^{-1}$ kod mlađi poreklom od gajenih matica i $0,22 \pm 0,04 \text{ g dan}^{-1}$ kod mlađi poreklom od divljih matica).

Reproduktivne performanse matica proizvedenih u RAS-u nisu se značajno razlikovale od divljih matica nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima. Međutim, kvalitet larvi poreklom od RAS matica je bio niži, što je verovatno posledica suboptimalne ishrane matica u RAS-u. Sedmodnevna prihrana tokom tranzicije ishrane larvi smuđa sa žive na koncentrovanu hranu dovela je do najpovoljnijih rezultata uzgoja larvi sa aspekta preživljavanja i prirasta te može biti preporučena za komercijalne uslove. Na osnovu ishoda korelacione analize može se zaključiti da uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na koncentrovanu hranu raste sa povećanjem gustine nasada. Obogaćivanje žive hrane vitaminom C rezultiralo je povećanim uspehom navikavanja na suhu hranu i višim prirastom riba, premda uočen napredak nije bio statistički značajan. Manuelna aplikacija suve hrane nije dovela do nižeg uspeha procedure navikavanja. Poznato poreklo roditelja nije poboljšalo uspeh navikavanja jezerske mlađi na uslove intenzivnog uzgoja, međutim, proizvedena tromesečna mlađ smuđa poreklom od intenzivno gajenih matica prikazala je značajno bolje performanse uzgoja. Sa aspekta proizvodne efikasnosti može se zaključiti da je kao tehnološki proces jezersko zimovanje matica proizvedenih u RAS-u odgovarajuće. U tehnologiji uzgoja larvi smuđa zasnovanoj na prvom hranjenju larvi isključivo živom hranom,

strategija prihrane artemijom u trajanju od sedam dana može biti praćena radi uspešne tranzicije ishrane larvi smuđa sa žive na koncentrovanu hranu. Početne gustine nasada od četiri do osam riba po litru, ručna aplikacija pomešane koncentrovane i prirodne crvolike hrane, uz mogućnost obogaćivanja vitaminom C, predložene su pri komercijalnom navikavanju jezerski gajene mesečne mlađi smuđa na koncentrovanu hranu. Prema prikazanim parametrima rasta mlađi poreklom od gajenih matica, čini se da bi uzgajivački program značajno povećao efikasnost uzgoja smuđa u RAS-u. Sa svoje četiri studije, ova disertacija je dotakla sve momente proizvodnog procesa proizvodnje mlađi smuđa pogodnog za intenzivan uzgoj – veštački mrest, intenzivan uzgoj novoizvaljenih larvi, tranziciju ishrane larvi sa žive na koncentrovanu hranu, navikavanje ekstenzivno gajene mesečne mlađi na koncentrovanu hranu, kao i početni odgoj u RAS-u mlađi pripremljene za intenzivan uzgoj. Konačno, dobijenim rezultatima, njihovim diskutovanjem i opisima korišćene metodologije, ova disertacija nudi osnovu za početak proizvodnje mlađi smuđa. Stoga, najvažniji ishod ove disertacije jeste dostupnost podataka o intenzivnom uzgoju mlađi smuđa ribouzgajivačkom sektoru.

Ključne reči: smuđ, akvakultura, diverzifikacija, larve, mlađ, recirkulacioni akvakulturni sistem, prirodna hrana, koncentrovana hrana, veštački mrest, navikavanje na koncentrovanu hranu

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Primenjena zoologija i ribarstvo

UDK: 639.3:639.216(043.3)

The effect of broodstock origin, stocking density and weaning strategies on the success of artificial reproduction, larviculture and juvenile on-grow of pikeperch (*Sander lucioperca* L., 1758)

Abstract: Aquaculture is the fastest growing food production sector in the world, however, rearing of aquatic animals is still on the far lower developmental stage compared to breeding of terrestrial animals. On the other hand, although on the global level aquaculture production is constantly growing, European freshwater aquaculture is rather stagnant in the last two decades. In order to improve production of freshwater species on the old continent, two directions have been suggested – either to follow developmental pattern of terrestrial animals and focus on the small number of species; or to follow the diversification principle, mainly through breeding of new species. Pikeperch was described as one of the most promising candidates for the task of diversification. Pikeperch intensive rearing is connected to the recirculation aquaculture system (RAS), which allows high control of production parameters. In order to breed the new specie in RAS, management of its life cycle is prime requirement. Therefore, definition of technological parameters for stable production of fingerlings suitable for intensive on-grow is the first task for pikeperch RAS rearing. In that sense, initial studies are focused on artificial reproduction, larviculture and juvenile rearing. Most of the previously published studies on the pikeperch artificial reproduction used wild fish as the main material. However, usage of wild broodstock leaves the life cycle opened. Further, fingerling material for intensive rearing must be adapted on the commercial diets. In case of pikeperch, two technologies have been described for production of juveniles habituated to dry feed – juvenile production in RAS exclusively; and juvenile production in combined pond-RAS system. Previously published studies on pikeperch larviculture were dealing with optimal age for weaning. Nevertheless, weaning strategies, i.e. mode of transition from live to inert diets was not the subject of their research. Likewise, several studies described the habituation to dry diets in pond-reared month-old juveniles. However, many issues from aspects of technology, nutrition and juvenile origin remained opened. With regard to described bottlenecks, the main research outcome of this thesis is to improve the production technology of pikeperch juveniles suitable for RAS rearing. Research has been conducted in four studies.

Reproductive success of RAS-reared and wild breeders was compared in the first study. Both groups were previously wintered in outdoor pond conditions. Each group was composed of six females and four males and was artificially propagated after the hormonal induction with human chorionic gonadotropin. Alongside with basic reproductive parameters, fatty acid composition of dry eggs and larval mortality during the first week of exogenous feeding have been evaluated. Beside significantly shorter latency time in RAS females, there were no statistically significant differences in basic reproductive parameters between the groups. Fatty acid composition of dry eggs was rather similar between the groups, however a statistically significant difference has been found in EPA/ARA ratio (eicosapentanoic acid; C20:5n-3 / arachidonic acid; C20:4n-6) being in average 5 times higher in RAS fish (5.1 ± 3.8) compared to wild (0.9 ± 0.3). Significantly lower larval mortality was recorded in wild fish ($13.4 \pm 1.7\%$ and $27.0 \pm 4.9\%$ in wild and RAS fish, respectively).

Second study was dedicated to the influence of weaning strategies on the survival, cannibalism and growth in pikeperch larvae. Weaning started on day 15 post-hatch and was carried out in two strategies – Co-feeding and Supplementary feeding. Co-feeding weaning was done by gradual decrease in amount of daily given *Artemia* for either 25 % or 14 % in 4-day and 7-day treatments, respectively. Supplementary feeding was performed through sudden cut of *Artemia* nauplii which was given exclusively as the last daily meal for four and seven days, in 4-day and 7-day treatments, respectively. Thus, each strategy was investigated in two treatments making in total four treatments, each composed of three replications. Co-feeding strategy led to more favourable results in terms of lower mortality, better growth and higher yield. Regarding the weaning duration, 7-day weaning resulted in better growth and survival compared to 4-day weaning.

Third study evaluated the effects of stocking density, vitamin C enrichment of natural food and feeding technique (hand vs. mechanical) on success of dry feed habituation in pond-nursed pikeperch juveniles. Juveniles were harvested from the pond on day 42 post-fertilisation and transported to the experimental RAS. In order to investigate the effect of stocking density, fish were stocked in three different densities – 0.5, 1 and 1.5 fish per litter, while the trial on the effects of live food enrichment and feeding technique was composed of two two-group comparisons with one common control treatment. Each treatment in both trials was realized in three replications. Analysis of variance did not show statistically significant differences in any of the assessed parameters among tested stocking densities. However, Pearson's correlation coefficient showed strong positive dependence between

stocking density and habituation success ($r^2 = 0.829$, $p = 0.006$). Enrichment of natural food with vitamin C improved the habituation success and growth, however without statistically significant differences ($p > 0.05$). Likewise, no statistical differences were noticed in the habituation success between hand and mechanical feeding ($p = 0.860$).

Last study was dedicated to the origin of pikeperch juveniles and possible influence of using the intensively reared broodstock on the production of juveniles suitable for RAS on-grow. First trial was dealing with success of habituation to dry feed in pond-nursed month-old juveniles originating from intensively reared and wild breeders. Trial was realized in two phases – period of 12-day dry feed habituation; and 9-day post-habituation period. At the age of three months, juveniles habituated on formulated diet were subjected to the 6-week on-grow trial to evaluate the growth performance in two described groups with different parental origin. Based on the achieved results, usage of juveniles originating from intensively reared breeders did not improve the success of dry feed habituation in month-old pond-nursed juveniles. However, three-month old fingerlings originating from intensively reared breeders showed significantly higher growth parameters expressed in specific growth rate (3.7 ± 0.0 % day^{-1} and 3.3 ± 0.1 % day^{-1} in juveniles originating from intensively reared and wild breeders, respectively) and in daily growth rate (0.45 ± 0.00 g day^{-1} in juveniles originating from intensively reared breeders and 0.22 ± 0.04 g day^{-1} in juveniles originating from wild breeders).

Reproductive performance of RAS-reared breeders did not differ significantly compared to wild breeders after wintering in outside pond conditions. However, larval quality in RAS breeders was lower, which is probably the consequence of suboptimal broodstock nutrition in RAS. Co-feeding weaning strategy in duration of seven days led to most advantageous larviculture results in sense of survival and growth and can be recommended for commercial conditions. Based on the correlation analysis it can be concluded that success of dry feed habituation improves with increased stocking density in pond-nursed pikeperch juveniles. Vitamin C enrichment of live food resulted in increased success of dry feed habituation and better growth, although noticed improvement was not statistically significant. Manual application of dry feed did not decrease success of habituation procedure. Known parental origin did not improve success of habituation to intensive conditions in pond-nursed fry, nevertheless produced three-month old fingerlings originating from intensively reared breeders exhibited significantly better rearing performance. In terms of production efficacy, it can be concluded that wintering of RAS-reared breeders in outside pond conditions is

appropriate technological process. It is concluded that for the technology based on first feeding with *Artemia* exclusively, the co-feeding weaning strategy for 7 days can be followed for successful larviculture of pikeperch. Initial stocking densities of four to eight fish per litter, hand application of mixed wormlike natural and dry food with possible enrichment with vitamin C are recommended for commercial scale dry feed habituation of pikeperch fry. Based on the showed growth performance of fingerlings originating from intensively reared breeders, it appears that the breeding program would significantly increase the efficacy of pikeperch rearing in RAS. With its four studies, this thesis went through all phases in production process of pikeperch juveniles suitable for intensive on-grow – artificial reproduction, intensive rearing of newly hatched larvae, larval weaning, habituation of pond-nursed juveniles to formulated diets, as well as the initial RAS-rearing of juveniles prepared for intensive on-grow. Finally, with its obtained results, discussions and descriptions of used methodology, this thesis offers the basis to start the pikeperch fingerling production. Therefore, the most important outcome of this dissertation is availability of data on the intensive rearing of pikeperch juveniles for the aquaculture sector.

Key words: pikeperch, aquaculture, diversification, larvae, juveniles, recirculation aquaculture system, natural food, formulated feed, artificial reproduction, dry feed habituation

Scientific field: Biotechnical Science

Scientific discipline: Applied Zoology and Fisheries

UDC: 639.3:639.216(043.3)

SADRŽAJ

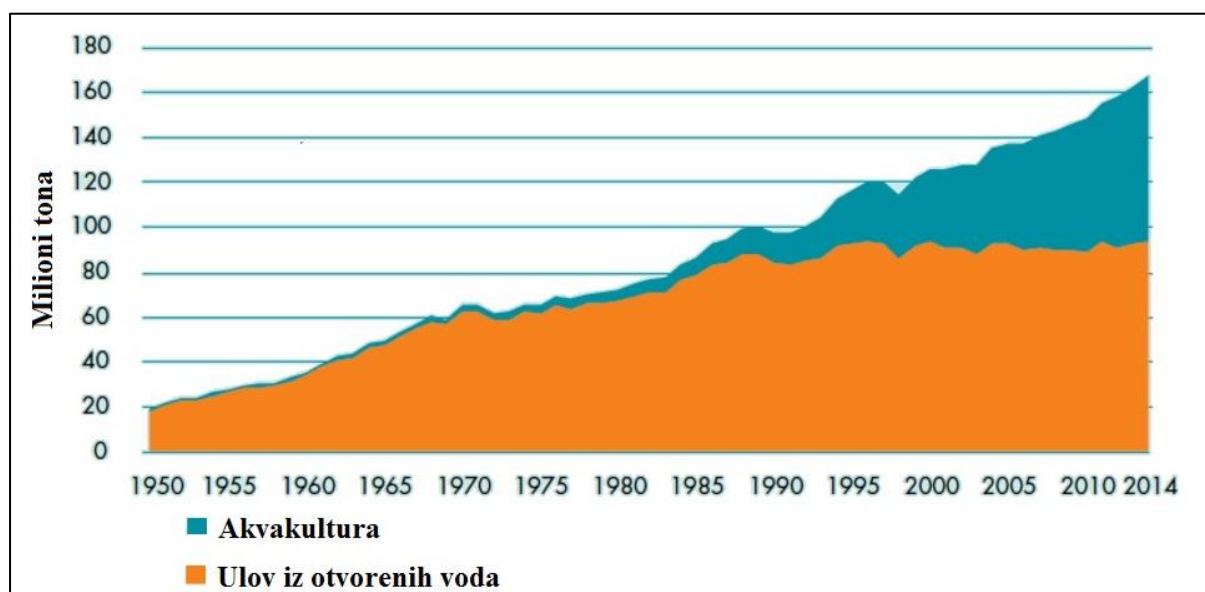
| | |
|---|----|
| 1. Uvod | 1 |
| 1.1. Akvakultura i potreba za diverzifikacijom | 1 |
| 1.2. Smuđ kao kandidat za diverzifikaciju evropske akvakulture | 4 |
| 1.3. Recirkulacioni akvakulturni sistem i njegova primena u intenzivnoj akvakulturi smuđa | 8 |
| 1.4. Karakteristike prirodnog mresta smuđa, razvoj veštačkog mresta, potrebe za maticama iz intenzivnog uzgoja i problematika evaluacije reproduktivnih performansi matica | 10 |
| 1.5. Proizvodnja mladi smuđa pogodne za uzgoj u RAS-u | 16 |
| 2. Ciljevi i hipoteze | 20 |
| 3. Materijali i metode | 22 |
| 3.1. Studija 1 – Evaluacija reproduktivnih performansi matica smuđa uzgojenih u RAS-u nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima | 24 |
| 3.1.1. Poreklo matica i način zimovanja..... | 24 |
| 3.1.2. Evaluacija reproduktivnih performansi matica..... | 25 |
| 3.1.3. Uzgoj larvi tokom prve nedelje egzogene ishrane (4-11 DPV)..... | 26 |
| 3.1.4. Masno-kiselinski sastav suve ikre | 27 |
| 3.1.5. Statistička analiza | 28 |
| 3.2. Studija 2 – Uticaj protokola ishrane tokom prelaska sa žive na koncentrovanu hranu na rast i preživljavanje larvi smuđa | 29 |
| 3.2.1. Eksperimentalna postrojenja i uzgoj larvi | 29 |
| 3.2.2. Eksperimentalni sistem, uslovi sredine i održavanje | 29 |
| 3.2.3. Dizajn eksperimenta | 30 |
| 3.2.4. Računati parametri..... | 31 |
| 3.2.5. Statistička analiza | 32 |
| 3.3. Studija 3 – Uticaj gustine nasada, tehnike hranjenja i obogaćivanja vitaminom C na navikavanje na koncentrovanu hranu jezerski gajenih mladunaca smuđa | 33 |
| 3.3.1. Poreklo riba i jezerski odgoj mladi..... | 33 |
| 3.3.2. Procedura navikavanja mladi na koncentrovanu hranu..... | 33 |
| 3.3.3. Dizajn eksperimenta | 34 |
| 3.3.4. Uzorkovanje, prikupljanje podataka i analize parametara | 35 |
| 3.3.5. Statistička analiza podataka | 36 |
| 3.4. Studija 4. Uticaj porekla roditelja smuđa na rezultate navikavanja na koncentrovanu hranu i intenzivni uzgoj potomstva | 37 |
| 3.4.1. Ekstenzivni uzgoj larvi | 37 |
| 3.4.2. Oglad 1. Navikavanje jezerski gajene mladi na uslove intenzivnog uzgoja | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4.3. Ogljed 2 – Uzgojne performanse proizvedene mladi | 40 |
| 3.4.4. Analiza podataka i statističke procedure | 41 |
| 4. Rezultati | 43 |
| 4.1. Studija 1 – Evaluacija reproduktivnih performansi matica smuđa uzgojenih u RAS-u nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima | 43 |
| 4.1.1. Uspeh mresta i mortalitet larvi tokom prve nedelje egzogene ishrane | 43 |
| 4.1.2. Masno-kiselinski sastav suvih jaja | 45 |
| 4.2. Studija 2 – Uticaj protokola ishrane larvi smuđa tokom prelaska sa žive na koncentrovanu hranu na rast i preživljavanje | 48 |
| 4.3. Studija 3 – Uticaj gustine nasada, tehnike hranjenja i obogaćivanja vitaminom C na navikavanje na koncentrovanu hranu jezerski gajenih mladunaca smuđa | 52 |
| 4.3.1. Ogljed 1 – Efekat gustine nasada | 52 |
| 4.3.1. Ogljed 2 – Efekat tehnike hranjenja i obogaćivanja žive hrane vitaminom C | 53 |
| 4.4. Studija 4. Uticaj porekla roditelja smuđa na rezultate potomstva prilikom navikavanja na koncentrovanu hranu i intenzivni uzgoj | 55 |
| 4.4.1. Ogljed 1. Navikavanje jezerski gajene mladi na uslove intenzivnog uzgoja | 55 |
| 4.4.2. Ogljed 2 – Uzgojne performanse proizvedene mladi | 55 |
| 5. Diskusija | 59 |
| 5.1. Evaluacija reproduktivnih performansi matica smuđa uzgojenih u RAS-u nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima | 59 |
| 5.2. Uticaj protokola ishrane tokom prelaska sa žive na koncentrovanu hranu na rast i preživljavanje larvi smuđa | 63 |
| 5.3. Uticaj gustine nasada, tehnike hranjenja i obogaćivanja vitaminom C na navikavanje na koncentrovanu hranu jezerski gajenih mladunaca smuđa | 66 |
| 5.4. Uticaj porekla roditelja smuđa na rezultate potomstva tokom navikavanja na koncentrovanu hranu i intenzivnog uzgoja proizvedene mladi | 69 |
| 6. Zaključci | 72 |
| Biografija | 91 |
| Izjava o autorstvu | 93 |
| Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije | 94 |
| Izjava o korišćenju | 95 |

1. UVOD

1.1. AKVAKULTURA I POTREBA ZA DIVERZIFIKACIJOM

Akvakultura je sektor proizvodnje hrane u svetu sa najbržim rastom (FAO, 2016). I pored ove činjenice, uzgoj vodenih životinja je i dalje na daleko nižem stupnju razvoja u odnosu na uzgoj kopnenih životinja u prilog čemu govori nekoliko činjenica. Pre svega, udeo ulova iz otvorenih voda je i dalje značajan (Slika 1.1) i zauzima više od polovine u ukupnoj količini ribe na svetskoj pijaci (FAO, 2016). Takođe, za razliku od gajenja kopnenih životinja gde postoji mali broj vrsta koje su zastupljene u proizvodnji, u akvakulturi je broj gajenih vrsta daleko veći (Bilio, 2007; De Silva et al., 2009; Teletchea i Fontaine, 2014). S tim u vezi, osnovna klasifikaciona jedinica u akvakulturi je i dalje na nivou vrste, dok se linija, soj i rasa mogu naći kod svega nekoliko gajenih akvatičnih vrsta. Na kraju, tehnologije uzgoja, pre svega u intenzivnom sistemu, detaljno su opisane za svega nekoliko vrsta riba (Gjedrem, 2000; Gjedrem i Baranski, 2009; Teletchea i Fontaine, 2014). Takođe, za mnoge vrste na listi uzgajanih akvatičnih organizama (FAO 2012-2017) poznavanje životnog ciklusa i dalje nije kompletno i neki od životnih stadijuma (npr. matice, mlađ) se i dalje koriste iz ulova, poreklom iz otvorenih voda (Teletchea i Fontaine, 2014).



Slika 1.1. Odnos količine ulova iz otvorenih voda i proizvodnje akvakulture u periodu 1950-2014. godine (FAO, 2016)

Iako je globalni trend proizvodnje vodenih organizama u konstantnom rastu, evropska slatkovodna akvakultura beleži stagnaciju u poslednje dve decenije (FAO, 2016). Trenutno ne postoji jasan pravac daljeg razvoja uzgoja ribe u Evropi, a ovo je potrebno kako bi se akvakultura na starom kontinentu sinhronizovala sa usponom ove privredne grane na ostalim kontinentima (Teletchea i Fontaine, 2014). Naime, imajući u vidu stanje broja gajenih vrsta i tehnologije njihovih uzgoja, postoje dva pravca daljeg razvoja. Jedan je pratiti način razvoja gajenja kopnenih životinja i usredsrediti se na mali broj vrsta, čija tehnologija uzgoja je dobro poznata, a vrste su podvrgnute domestikaciji do određenog nivoa (Bilio, 2008). Drugi pravac podrazumeva suprotan princip – princip diverzifikacije (De Silva et al., 2009; Diana, 2009; Fontaine et al., 2009). Ovaj pravac ukazuje na opciju povećanja raznovrsnosti u pogledu uzgajanih vrsta, ali i načina njihove proizvodnje. Smisao povećanja broja gajenih vrsta i tehnologija proizvodnji je u saglasnosti sa principima očuvanja životne sredine. Pre svega, povećanjem broja vrsta i baziranjem na vrstama karakterističnim za određene regione, smanjuje se rizik od ugrožavanja biodiverziteta izrazito povećanim prisustvom malog broja vrsta, a gde je uvođenje alohtonih vrsta neizbežno. Sa druge strane, uzgojem vrsta karakterističnih za datu oblast smanjuje se rizik aklimatizacije na nove uslove i otvara mogućnost korišćenja klimatskih i vodnih resursa kombinovanjem više sistema proizvodnje. Konačno, diverzifikacija ponude najčešće vodi do poboljšanja poslovanja malih i srednjih preduzeća (Qian, 2002).

U tom smislu, poslednjih par decenija istraživači iz oblasti akvakulture ispitivali su više vrsta koje bi mogle biti pogodne za diverzifikaciju evropske slatkovodne akvakulture. Studije su imale zadatak da opišu i kompletiraju biološki ciklus vrste od interesa. Nakon velikog broja studija, najčešće pominjani kandidati za intenzivan uzgoj su bandar *Perca fluviatilis* (Mélard et al., 1996), manić *Lota lota* (Žarski et al., 2010) i smuđ *Sander lucioperca* (Zakęs i Demska-Zakęs, 1996.)

Bandar, odnosno evroazijski grgeč, je karakterističan predstavnik porodice grgeča (Percidae). Tokom prethodne dve decenije studije rađene na bandararu su se mahom bavile veštačkim mrestom (Kucharczyk et al., 1996, 1998; Szczerbowski et al., 2009), intenzivnim uzgojem larvi (Kestemont et al., 1996), te indukcijom sazrevanja gonada u kontrolisanim uslovima (Migaud et al., 2002; Abdulfatah et al., 2011, 2013). Štaviše, shodno dugoj istoriji istraživanja i znatnom razvoju tehnologije uzgoja, nekoliko studija je objavljeno na temu uticaja domestikacije na karakteristike uzgoja bandara (Mairesse et al., 2007; Douxfils et al., 2011; Křišťan et al., 2012; Khendek et al., 2017). Nakon uspeha na eksperimentalnom nivou,

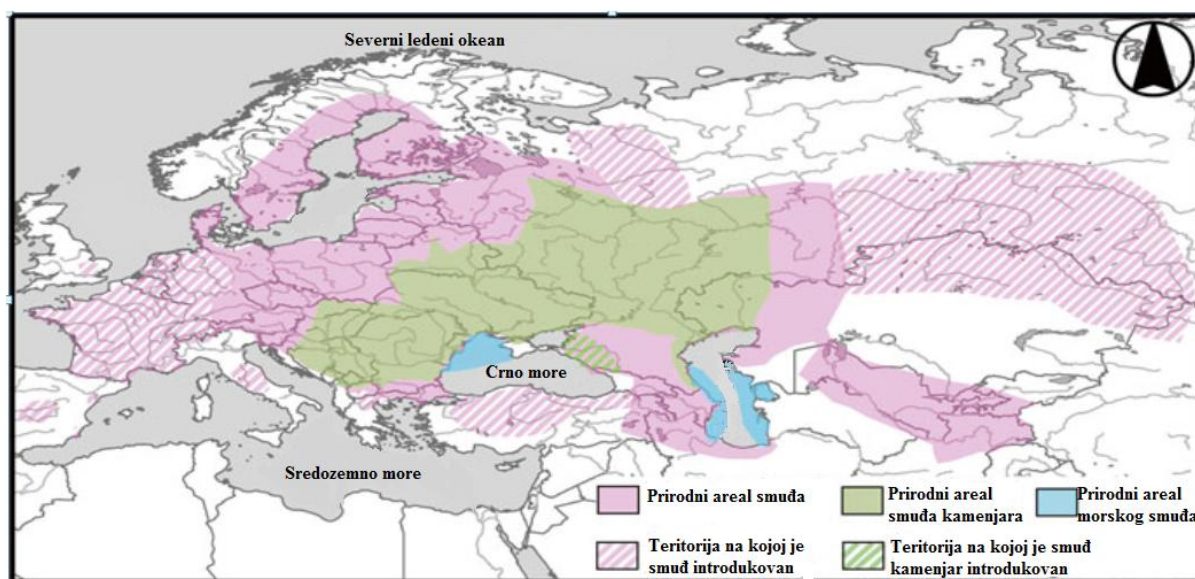
ova tehnologija je uspešno introdukovana i na komercijalni, pa čak u nekom smislu industrijski nivo što je rezultiralo novim farmama i mrestilištima širom Evrope (Steenfeldt et al., 2015).

Osnovna metabolička karakteristika manića jeste njegovo specifično povećanje aktivnosti pri nižim temperaturama, uprkos činjenici da obitava i na prilično niskim geografskim širinama severne hemisfere (Paragamian i Willis, 2000). Naime, dok pri višim temperaturama prelazi u stanje hibernacije, sa jeseni i sa smanjenjem temperature vode dolazi do značajnog ubrzanja njegovog metabolizma, te se njegov mrest na području srednje, istočne i jugoistočne Evrope najčešće dešava pri minimalnim godišnjim temperaturama vode u decembru i januaru mesecu. Manić je bio tema istraživanja iz oblasti akvakulture u poslednjoj deceniji. U objavljenim studijama opisan je veštački mrest (Vught., 2008; Žarski et al., 2010), te uzgoj larvi (Shiri Harzevili et al., 2003; Kupren et al., 2014; Palińska-Žarska et al., 2014a, b) i mlađi ove vrste (Trejchel et al., 2014). Shodno ohrabrujućim rezultatima, trenutno je u toku prelazak ove tehnologije na komercijalni nivo (Mitrovich, 2013).

Dok su rezultati istraživanja biološkog ciklusa u zatočeništvu u prethodne dve vrste ohrabrujući, isto se, nažalost, ne može reći i za smuđa. Naime, kao glavno usko grlo proizvodnje je definisana stabilna proizvodnja nasadnog materijala, mlađi naviknute na koncentrovanu hranu i uslove intenzivnog uzgoja (Mani-Ponset et al., 1994). U poslednje dve decenije, značajan broj istraživanja je posvećen veštačkom mrestu smuđa (Zakęs i Szczepkowski, 2004; Rónyai, 2007; Kucharczyk et al., 2007; Žarski et al., 2012a), intenzivnom uzgoju larvi (Kestemont et al., 2007; Szkudlarek i Zakęs, 2007), te odgoju mlađi pogodne za intenzivni uzgoj (Zakęs et al., 2006; Wang et al., 2009a). Rezultati istraživanja su prilično varijabilni, a sa njima i uspeh implementacije u praksi. Međutim, dok bandara i manića karakteriše relativno spor rast, te tržišta karakteristične i prilično uske niše, potencijal tržišta i performanse intenzivnog uzgoja smuđa od 10g do 1kg su toliko impresivne da je i pored svih rizika, transfer tehnologije na komercijalni nivo započeo prilično rano. Zbog toga, i pored nestabilnog tržišta nasadnog materijala, razvoj ove tehnologije uzgoja na eksperimentalnom i komercijalnom nivou se i dalje smatra opravdanim (Steenfeldt et al., 2015).

1.2. SMUĐ KAO KANDIDAT ZA DIVERZIFIKACIJU EVROPSKE AKVAKULTURE

Smuđ, *Sander lucioperca* (L., 1758), je jedna od tri evropske vrste iz roda *Sander*, gde još spadaju smuđ kamenjar *Sander volgensis* i morski smuđ *Sander marinus*. Trenutni areal smuđa, uključujući i prostore gde je uspešno introdukovan, je daleko veći od areala ostale dve pomenute vrste. Prostire se od reke Ebro u Španiji na zapadu do Kine na istoku i od Sredozemnog mora, Kaspijskog jezera i Irana na jugu do Rusije, Švedske i Finske na severu (Slika 1.2).



Slika 1.2. Areal evropskih vrsta iz porodice *Sander* (izvor Stepien i Haponski, 2015)

Smuđ je mesožder, koji se u toku larvenog i ranog juvenilnog stadijuma hrani organizmima zooplanktona i larvama tvrdokrilaca. Sa mesec dana starosti postepeno prelazi na piscivornu ishranu, da bi sa 10 cm dužine, ribe postale osnovna stavka dalje ishrane smuđa (Buijse i Houthuijzen, 1992; Hansson et al., 1997). Raste do maksimalne dužine od 130 cm i mase 12-18 kg (FAO, 2010; Slika 1.3.). Smuđ je noćna vrsta, aktivan uglavnom tokom mraka, te danju u uslovima povećane mutnoće vode (Popova i Sytina, 1977; Lehtonen et al., 1996). Izrazito razvijena očna retina mu omogućava uspešan lov u uslovima smanjene vidljivosti (Ali et al., 1977). Tokom dana, uglavnom obitava u dubljim i tamnijim delovima staništa, dok se tokom noći premešta u pliće delove radi lova (Popova i Sytina, 1977). Zrele jedinke se često hrane u blizini teritorije pogodne za predstojeći mrest (Lehtonen i Toivonen, 1988). Iako aktivan, zimi se mahom slabije hrani, dok se usled porasta temperature njegov metabolizam, a sa tim i ishrana značajno ubrzavaju (Popova i Sytina, 1977). Sa jesenjim

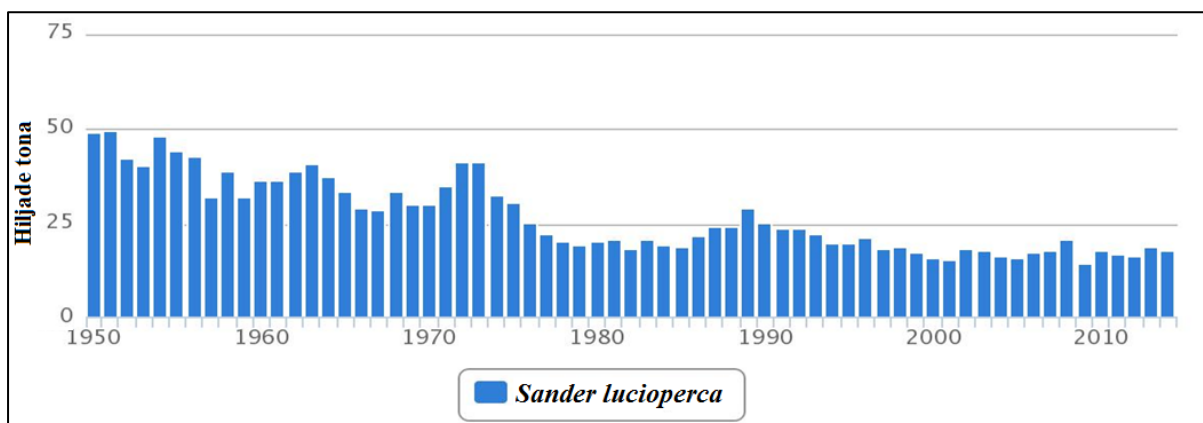
zahlađenjem, zrele jedinke, pre svega ženke, nastavljaju sa aktivnom ishranom usled metaboličkih potreba za razvoj gonada, odnosno vitelogeneze, koja je najizraženija u jesenjem periodu (Fontaine et al., 2015). Veličina plena smuđa je uglavnom u pozitivnoj korelaciji sa njegovom veličinom, mada je svakako uslovljena i veličinom plena dostupnog na datoj teritoriji (Hansson et al., 1997; Dörner, 2007). Iako slatkovodna vrsta, prilično je tolerantan na brakične uslove, podnoseći salinitet do 10-12 ‰, te je značajno rasprostranjen u Baltičkom moru (Lehtonen et al., 1996). Međutim, njegove larve ne podnose salinite viši od 5 ‰, pa se na takvim staništima mrest najčešće obavlja na ulivima slatke vode (Lehtonen et al., 1996; Lappalainen et al., 2003). Migracije su karakteristične za populacije smuđa (Lehtonen et al., 1996), međutim njihov obrazac i dalje nije definisan. Svakako, postoje mresne migracije kao i migracije radi ishrane koje dovode do preklapanja i mešanja populacija (Lehtonen i Toivonen, 1988; Koed et al., 2000). Opisane su velike brzine migracija nekih jedinki (Koed et al., 2000), njihova sposobnost vraćanja na izvornu teritoriju (Keskinen et al., 2005), te takođe delimična migracija populacija, gde deo populacije menja stanište, dok deo ostaje na teritoriji prethodnog mresta (Lehtonen et al., 1996). Polnu zrelost mužjaci dostižu sa 2-3 godine starosti, odnosno 30-35 cm dužine tela, dok je kod ženki obično potrebna jedna godina više, odnosno veličina od 35 do 40 cm dužine (Lehtonen et al., 1996; Lappalainen et al., 2003).



Slika 1.3. Autor sa kapitalnim primerkom smuđa (Foto T.Ristović)

Meso smuđa je neutralnog ukusa, bez mirisa i kao takvo je izuzetno cenjeno od strane potrošača. Udeo koji filet zauzima u ukupnoj masi žive ribe je visok, dok je procenat masti u filetu ispod dva procenta (Jankowska et al., 2003). Masno-kiselinski sastav mesa smuđa je sličan morskim ribama (Kowalska et al., 2011). Odlikuje ga visok procenat dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina i izuzetno povoljan odnos n-3 i n-6 nezasićenih masnih kiselina, što ga čini veoma poželjnom slatkovodnom vrstom riba na trpezi čoveka. Zbog svojih atraktivnih karakteristika, takođe vrlo je cenjen među rekreativnim ribolovcima (FAO, 2012-2017).

Ukupan godišnji izlov smuđa u poslednjih 70 godina na globalnom nivou se kreće od 20 do 50 hiljada tona, sa trendom smanjenja, pre svega zbog nekontrolisanog izlova, od pedesetih godina prošlog veka do danas (Slika 1.4). Upravo je to i razlog sve veće potražnje za smuđem u Evropi, kako za potrebe ljudske ishrane, tako i za približavanje ribolovnih voda i prirodnih vodenih ekosistema.

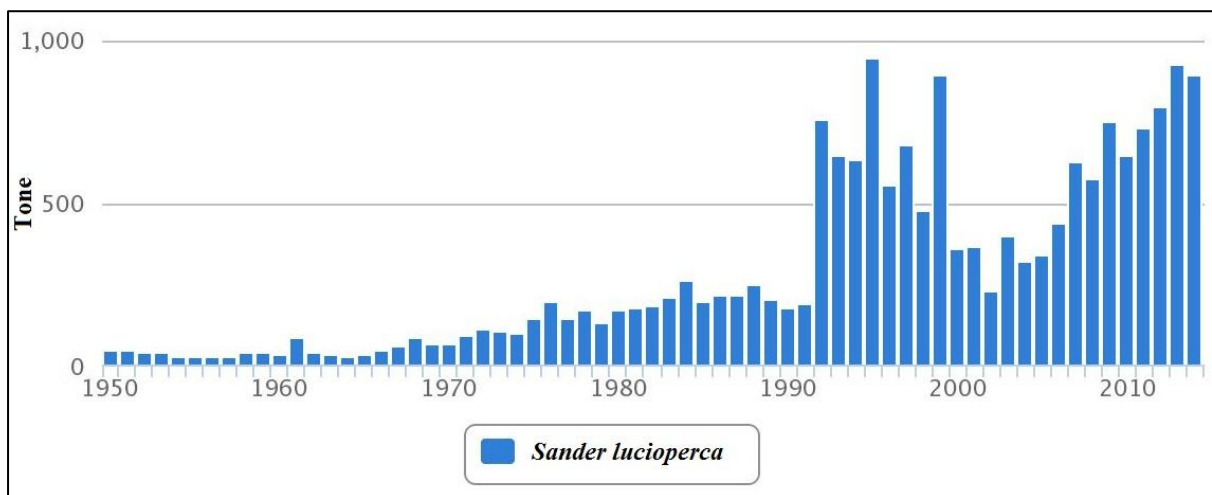


Slika 1.4. Ukupan godišnji izlov smuđa u periodu 1950 – 2014. (FAO, 2012-2017)

U istom periodu, proizvodnja smuđa beleži značajan rast, ali sa izraženim varijacijama u količini ostvarene proizvodnje (Slika 1.5). Razlog je činjenica da je najveći deo proizvodnje poreklom iz ekstenzivne akvakulture smuđa, odnosno poluintenzivne proizvodnje šarana *Cyprinus carpio*, gde se smuđ gaji kao prateća vrsta. U šaranske ribnjake se nasađuje radi kontrole divlje ribe, a u kojima proizvodnja smuđa zavisi pre svega od količine raspoloživog plena. Tako proizvodnja u proseku iznosi 40 kg ha⁻¹ (Bojčić et al., 1982). Bez obzira na trend rasta proizvodnje smuđa u akvakulturi, ukupna proizvodnja i dalje predstavlja mali deo količine u prometu smuđa. Tako je u toku 2009. godine u svega tri zemlje ukupna proizvodnja smuđa prešla 100 tona (Danska, Tunis, Ukrajina), a udeo akvakulture iznosio manje od 5 % ukupnog izlova (Steenfeldt et al., 2015). Navedeni podaci

ukazuju da postoji značajan prostor za smuđa iz uzgoja u ukupnom prometu, a smuđ je definisan kao jedan od glavnih kandidata za diverzifikaciju evropske akvakulture.

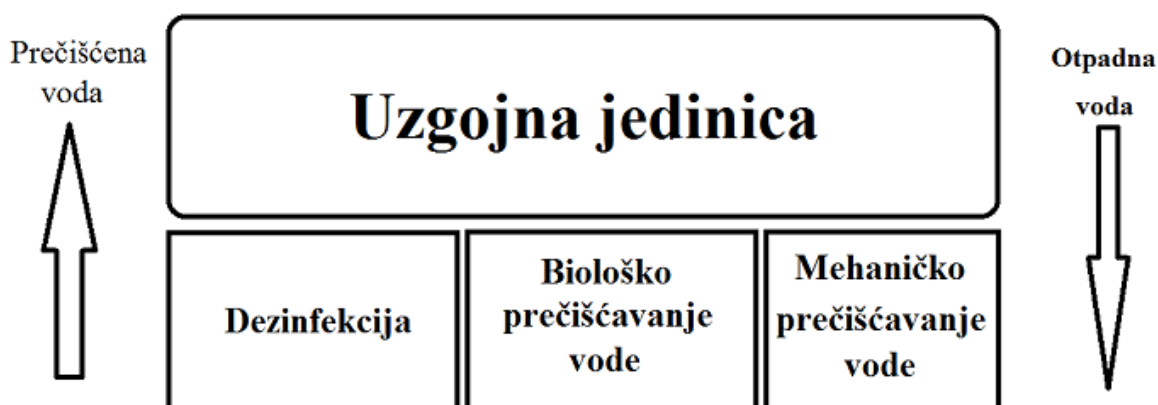
Kako je produkcija smuđa u ekstenzivnim uslovima niska i promenljiva, kao glavni pravac za razvoj akvakulture smuđa je definisan uzgoj u visoko kontrolisanim, intenzivnim sistemima. Sistem koji pruža najveći stepen kontrole u akvakulturi jeste recirkulacioni akvakulturni sistem - RAS (eng. Recirculation Aquaculture System). Kritična stavka pri izgradnji RAS-a jesu visoki investicioni troškovi, kao i prilično visoki operativni troškovi (Martins et al., 2010). Zbog toga, pri postavci ovog oblika proizvodnje od osnovnog je značaja izbor vrste za uzgoj, jer prodajna cena mora da opravda troškove. Cena smuđa u zemljama Evropske unije se kreće od 8 do 13 € kg⁻¹ (Steenfeldt et al., 2015). Maksimalne gustine pri gajenju su 50-80 kg m⁻³, a uzgojni period od larve do konzumne veličine (0,8 - 1,2kg) je 12-16 meseci (Dalsgaard et al., 2013). Ovim proizvodnim karakteristikama i veličinom tržišta, smuđ je predstavljen kao vrsta koja opravdava visoke troškove proizvodnje. Stoga, u više zemalja Evrope od početka devedesetih godina prošlog veka do danas, za mnoštvo naučno-istraživačkih institucija i istraživačko razvojnih kompanija uzgoj smuđa u RAS uslovima je bio jedna od glavnih tema istraživanja, razvoja i implementacije u praksi. Tako danas možemo naći nekoliko proizvođača koji proizvode smuđa konzumne mase u RAS-u sa ukupnom godišnjom proizvodnjom od 100 do 250 t (Steenfeldt et al., 2015).



Slika 1.5. Ukupna proizvodnja smuđa u akvakulturi u periodu 1950-2014. (FAO, 2012-2017)

1.3. RECIRKULACIONI AKVAKULTURNI SISTEM I NJEGOVA PRIMENA U INTENZIVNOJ AKVAKULTURI SMUĐA

Konkurencija sa drugim granama privrede za zemljištem i svežom vodom, kao i negativan uticaj proizvodnje na životnu sredinu, naveli su stručnjake koji se bave akvakulturom da razmišljaju drugačije u odnosu na tradicionalnu proizvodnju u jezerima, kavezima i protočnim sistemima (Badiola et al., 2012). U tim okolnostima, RAS se našao kao rešenje za spomenute prepreke (Martins et al., 2010). Naime, RAS je u upotrebi u naučno-istraživačkoj delatnosti već nekoliko decenija (Losordo i Westerman, 1994.). Radi uspostavljanja proizvodnje industrijskih razmera, visoka početna ulaganja kao i visoki troškovi proizvodnje, do skora nisu bili opravdani cenom ribe. Međutim, prekomernim izlovom otvorenih voda, prenaseljenošću određenih delova kopna te nedostatkom zemljišnih i vodnih resursa, proizvodnja u recirkulacionim sistemima uzima sve veći mah u Evropi (Pauly et al., 2002; Hilborn et al., 2003; Dalsgaard et al., 2013). S druge strane, mnoge vrste riba koje su na listi ugroženih ili teško uzgojivih u drugim sistemima daju novu dimenziju i prostor za razvoj RAS-a. Takođe, prednosti RAS-a su prepoznate u proizvodnji mlađi, gde visoka cena proizvoda i potreba za visokim nivoom kontrole uslova sredine tokom gajenja, opravdava veća ulaganja u proizvodnju (Badiola et al., 2012).



Slika 1.6. Shema funkcionisanja recirkulacionog sistema (Fernandes et al., 2015)

Generalno, RAS podrazumeva intenzivnu proizvodnju riba gajenih u velikim gustinama sa konstantnim tretmanom otpadne vode i njenim ponovnim korišćenjem kao prečišćene vode. Dakle, radi se o tehnološko-biološkom sistemu, što ga čini izuzetno komplikovanim za održavanje (Badiola et al., 2012). Najjednostavnije, RAS se može predstaviti u dve jedinice – uzgoj i tretman (Slika 1.6). Uzgojna jedinica je sastavljena od

bazena različitih zapremina u kojima se ribe gaje u gustini 10-300 kg m⁻³, u zavisnosti od vrste i uzrasne kategorije ribe (Masser et al., 1999; Sammouth et al., 2009). Temperatura vode je najčešće optimalna sa aspekta prirasta gajenih vrsta riba, te je u pri visokim gustinama nasada proizvodnja amonijaka i fecesa izuzetno visoka. Kako bi otklonili štetne produkte metabolizma iz uzgojne jedinice potrebna je konstantna izmena prečišćenom vodom. U tretmansku jedinicu stiže voda smanjene koncentracije kiseonika i povećane koncentracije amonijaka i fecesa. Tretmanske jedinice se sastoje iz tri dela: mehaničkog, biološkog i dezinfekcionog (Crab et al., 2007). Na prvom koraku voda se oslobađa od mehaničkih nečistoća. Postoji više oblika mehaničke filtracije, a najčešće su u upotrebi bubanj i sedimentacioni filteri (Cripps i Bergheim, 2000). Mehanički prečišćena voda prelazi na biološki tretman gde se otklanjaju hemijske nečistoće, proizvodi metabolizma riba, pre svega amonijak i nitriti. Osnovna biološka prerada vode je nitrifikacija, dok napredni recirkulacioni sistemi sve češće u svom sklopu imaju i denitrifikacionu komoru. U nitrifikacionom reaktoru amonijak se preko nitrita prevodi do nitrata uz pomoć aerobnih autotrofnih bakterija (Van Rijn et al., 2006; Van Kessel et al., 2010; Schreier et al., 2010). Najčešće korišćeni tipovi bioloških filtera su pokretni krevet bioreaktori (eng. Moving Bed Bio Reactor – MBBR) i kapajući filter (eng. trickling) (Eding et al., 2006; Rusten et al., 2006). Ribe mogu da tolerišu relativno visoku koncentraciju nitrata u vodi, te se u klasičnoj postavci RAS-a ukupnom izmenom vode od 10% dnevno održava njihov željeni nivo (Masser et al., 1999; Ebeling et al., 2006). Nakon biološkog tretmana, voda prolazi kroz dezinfekcionu komoru gde se oslobađa od mikroorganizama putem UV ili ozonske filtracije (Sharrer i Summerfelt, 2007). Na ovakav način, prečišćena voda se uz pomoć pumpi vraća nazad u uzgojnu jedinicu.



Slika 1.7. Smuđ konzumne veličine uzgojen u RAS-u (Foto T. Ristović)

Osnovna prednost RAS-a u odnosu na druge sisteme za uzgoj riba jeste mogućnost održavanja konstantno optimalnih uslova za uzgoj, pre svega temperature vode i zasićenosti vode kiseonikom. Ova činjenica ga čini pogodnim za uzgoj osetljivijih vrsta riba, odnosno osetljivijih uzrasnih kategorija, pre svega mlađi. Za brz rast smuđ zahteva relativno visoke temperature vode preko 22 °C (Rónyai i Csengeri, 2008; Wang et al., 2009a) kao i značajnu zasićenost vode kiseonikom od preko 90% na upustu u uzgojni bazen (Stejskal et al., 2012). Takođe, za optimalan razvoj smuđ traži mračne uslove (Luchiari, et al., 2006; Kozłowski et al., 2010). Svi ovi zahtevi za optimalnim uslovima sredine ostvarivi su u RAS-u, koji se shodno tome može smatrati prekretnicom u razvoju intenzivne kulture smuđa. Osnovna postavka RAS-a za uzgoj smuđa sastoji se od tri jedinice: jedinica za podizanje larvi, jedinica za uzgoj mladunaca i jedinica za uzgoj konzumne kategorije. U prvu jedinicu nasaduju se novoizvaljene larve u gustini 15-100 larvi po litru (Szkudlarek i Zakęś, 2007) i gaje se na temperaturi 16-22 °C. Nakon 30 dana rani juvenilni se prebacuju u sistem za odgoj mlađi gde se gaje do mase 10-15 grama. Optimalna temperatura za intenzivan uzgoj mlađi u RAS-u su 22-25 °C, sa gustinom nasada koja se kreće 15-30 kg m⁻³ (Dalsgaard et al., 2013). Na kraju, mlađ pripremljena za intenzivan uzgoj prenosi se u sistem za odgoj do konzumne veličine, koji se obavlja na temperaturi 22-26 °C sa gustinom nasada 20-80 kg m⁻³. Trenutno, najčešća konzumna veličina smuđa na tržištu Evrope je 0,8-1,2kg (Steenfeldt et al., 2015).

1.4. KARAKTERISTIKE PRIRODNOG MRESTA SMUĐA, RAZVOJ VEŠTAČKOG MRESTA, POTREBE ZA MATICAMA IZ INTENZIVNOG UZGOJA I PROBLEMATIKA EVALUACIJE REPRODUKTIVNIH PERFORMANSI MATICA

Smuđ se u prirodi mresti od kraja marta do polovine juna u zavisnosti od geografske širine lokacije na kojoj obitava (Lappalainen et al., 2003). Tako, u južnom delu njegovog areala mrest počinje krajem marta, dok su na području Finske i Švedske maj i jun najčešći meseci mresta. Obično se mrest odigrava pri temperaturi vode od 12 do 14 °C. U mediteranskim zemljama poput Tunisa, gde je smuđ introdukovan (M'Hetli et al., 2011), vreme mresta je regulisano fotoperiodom, te matice ne počinju mrest pre prolećne ravnodnevnicе. Takođe, u Skandinaviji, mrest smuđa se događa već na temperaturama 8 – 10 °C. Smuđ se mresti u paru i kao takav se klasifikuje kao monogamna vrsta (Lappalainen et al., 2003). Muške populacije prve stižu na prostore pogodne za mrest gde prave gnezda i čekaju ženke. Sam mrest jedne populacije traje nekoliko nedelja, gde veće jedinice započinju period mresta, dok se najmanje jedinice mreste poslednje. Nakon mresta, mužjak ostaje na

gnezdu do dve nedelje, čuvajući ga od predatora i redovno ga čisteći. Trajanje inkubacije jaja je u zavisnosti od temperature vode, obično između 80 i 110 stepen dana, odnosno kreće se od osam do devet dana pri temperaturi vode od 12 °C do svega četiri do pet dana pri temperaturi vode od 18 °C (Schlumberger i Proteau, 1996; Kucharczyk et al., 2007).

Pojavu karakterističnog načina mrešćenja smuđa na gnezdima su iskoristila prva istraživanja u domenu reprodukcije, te su prvi mrestovi u zatočeništvu ispitivani u delimično kontrolisanim uslovima (Schlumberger i Proteau, 1996). Gnezda bi bila postavljana u jezera nasadena jednakim brojem muških i ženskih polno zrelih jedinki i nakon mresta oplođena jaja bi bila prebacivana u rastilišta za odgoj mesečnjaka (Bojčić et al., 1982). Zbog dugog vremenskog razmaka u ovulaciji između ženki iste populacije, sledeća istraživanja bila su usmerena ka hormonskoj indukciji mresta sa svrhom bolje sinhronizacije ovulacije. Nakon hormonske indukcije, matice bi u parovima bile nasađivane u kaveze snabdevene mresnim supstratom – veštačkim gnezdima (Zakęś i Demska-Zakęś, 2009) koji bi bili smešteni u jezerskim objektima. Međutim, i dalje je stepen kontrole bio prilično nizak, a mogućnosti za održavanje higijene oplođenih jaja minimalne, što je povećavalo rizik neuspeha mresta. Sledeći korak u povećanju kontrole mresta bilo je unošenje matica u zatvoreni prostor sa mogućnošću kontrole uslova sredine. U takvim okolnostima, parovi matica bi bili nasađivani u mresna odeljenja unutrašnjih bazena (Slika 1.8.) i hormonski indukovani radi konačnog mresta (Ronyai, 2007). Nakon mresta, gnezda bi bila prebacivana u tankove za inkubaciju sa mogućnošću primene profilaktičkih kupki. Iako je ovakav način mresta povećao efikasnost, i dalje je bio okarakterisan kao polu-veštački.



Slika 1.8. Par smuđeva u polu-kontrolisanom veštackom mrestu smuđa u tanku (Foto U. Ljubobratović)

Veštačka reprodukcija riba podrazumeva indukciju ovulacije ženki, ceđenje suvih jaja i mleča, kratkotrajno skladištenje i *in vitro* fertilizaciju. Razlozi za ovakvom tehnologijom su pre svega povećana efikasnost proizvodnje oplodjenih jaja i larvi, smanjenje korišćenog prostora i na kraju omogućavanje uspostavljanja različitih odgajivačkih procesa. Dakle, logičan sledeći korak istraživanja bio je u osvajanju tehnologije potpuno kontrolisanog mresta smuđa. Kao prva prepreka za komercijalizacijom ove tehnologije našla se nesinhronizovanost vremena latencije – vreme od hormonske injekcije do ovulacije (Žarski et al., 2012a). Naime, vreme latencije je izrazito karakteristično za individuu te se i pored hormonske indukcije razlika u vremenu latencije između tretiranih ženki kreće i do nekoliko dana. Uprkos različitim hormonskim i termalnim manipulacijama (Žarski et al., 2013) ova prepreka nije prevaziđena, te je rešenje nađeno u prevenciji spontane ovulacije i gubitku jaja, posledice nesinhronizovane ovulacije. U tom smislu, opisana je tehnika zašivanja genitalnog otvora ženki (Žarski et al., 20015a, Slika 1.9.).



Slika 1.9. Procedura ušivanja papile ženki smuđa prema metodu Žarski et al., 2015a (Foto: Kovács László)

Iako je humani horionski gonadotropin (hCG) opisan kao najefikasnije sredstvo za indukciju ovulacije kod ženki smuđa (Zakęś et al., 2013a; Źarski et al., 2013), istraŹivanja u pravcu korišćenja hormonskih analoga, kao što je analog lososovog gonadostimulirajućeg hormona - sGnRHa (eng. salmon gonadotropin stimulating hormone analog) se i dalje izvode sa svrhom poboljšanja efikasnosti mresta i zamene organskih hormona sintetičkim (Źarski et al., 2016). Nakon prikupljanja reproduktivnog materijala, fertilizacija se obavlja suvom metodom (Kucharczyk et al., 2007; Zakęś i Demska-Zakęś, 2009). Pre postavke jaja u inkubatore, potrebno je otkloniti njihova adhezivna svojstva, čemu je posvećeno nekoliko studija (Demska-Zakęś et al., 2005; Źarski et al., 2015b; Křišt'an et al., 2015). I pored brojnih studija, praktična metoda primenljivana na različitim lokalitetima i dalje nije definisana (Ljubobratović et al., 2017), te različita mrestilišta pribegavaju različitim metodama.

I pored toga što je za brz rast potrebna prilično visoka temperature vode (Rónyai i Csengeri, 2008; Wang et al., 2009a), smuđ je okarakterisan kao riba sveŹe vode, jer je za njegovu reprodukciju neophodan hladni period godine u kom se dešava sazrevanje gonada. Naime, vitelogeneza počinje s jeseni sa smanjenjem temperature vode i trajanja obdanice (Fontaine et al., 2015). Ovakav naćin sazrevanja gonada bio je motiv za istraŹivanjem fototermalne manipulacije u svrhu delimićne ili potpune kontrole indukcije mresta. Prva istraŹivanja su koristila spoljašnje objekte, najćešće zimovnike, gde su nasadiwane matice, a potom boravile do početka perioda mresta (Horváth et al., 1984). Dalja kontrola sazrevanja gonada uključivala je delimićno korišćenje potpuno kontrolisanih unutrašnjih sistema sa svrhom vanezonskog mresta. Studije su pokazale da je u slućaju zimovanja matica u spoljašnjim objektima, uspešan mrest moguće izvesti i do tri meseca pre prirodne sezone mresta uz upotrebu hormona (Ronyai, 2007; Zakęś i Szczepkowski, 2004), kao i bez hormonskog tretmana (Müller-Belecke i Zienert, 2008). U tom smislu, jezersko prezimljavanje matica smuđa moŹe da obezbedi larve u trajanju od tri meseca godišnje.

Većina prethodno pomenutih studija o mrestu smuđa koristile su divlje, odnosno matice iz ekstenzivnog uzgoja kao osnovni matićni materijal. Upotreba ovih riba u cilju proizvodnje nasadnog materijala povlaći sa sobom pitanja proizvodne i etićke prirode. Naime, upravljanje životnim ciklusom odrećene vrste je krucijalno za uspeh intenzivnog uzgoja, a korišćenje divljih matica ostavlja ciklus nekompletiran. Takoće, kao što je ranije spomenuto, dostupnost i kvalitet ovakvog materijala su varijabilni u odnosu na sezonu i moŹe dovesti do naglih promena u intenzitetu proizvodnje što je neprihvatljivo za potrebe proizvodnje u RAS-u. Nadalje, divlje i ribe iz ekstenzivnog uzgoja nisu naviknute na ćesto i

višednevno ručno manipulisanje koje je neizostavna stavka svakog veštačkog mresta. Takva manipulacija se može okarakterisati kao izuzetno stresna za ove ribe, te je i sa etičke strane moderne proizvodnje veštačko mrešćenje divljih riba nepoželjno. Rešenje je u korišćenju polno zrelih riba proizvedenih u RAS-u. Potpuna kontrola indukcije sazrevanja gonada u uslovima RAS-a je obrađena u nekoliko studija (Hermelink 2011, 2013, 2017). Međutim, sem što je opisana kao moguća (Zakeš 2007; Zakeš et al., 2013a), konačan protokol kontrolisane indukcije gonada u RAS-u i dalje nije definisan. Kontrola indukcije sazrevanja gonada podrazumeva veštačku termalnu manipulaciju – rashlađivanje vode – koja sama po sebi predstavlja dodatnu stavku u ukupnim troškovima održavanja i inače skupih sistema, a takođe podrazumeva izuzetno smanjen prirast ribe u takvim uslovima i indirektno utiče na ekonomičnost proizvodnje. Shodno činjenici da je jezerski sistem najrasprostranjeniji oblik proizvodnje u zemljama srednje i istočne Evrope, te je infrastruktura lako dostupna, zimovanje matica iz RAS-a u jezerskim sistemima predstavlja prilično ekonomičan način indukcije sazrevanja gonada. Takođe, kombinacija RAS i jezerskog sistema je i ranije opisivana kao moguće rešenje za smanjenje troškova intenzivne proizvodnje smuđa (Blecha et al., 2016).



Slika 1.10. Postupak prikupljanja jaja metodom ceđenja matica iz intenzivnog uzgoja nakon zimovanja u jezerskom sistemu (Foto T. Ristović)

Proizvodnja smuđa u RAS-u omogućava kontrolu optimalnih uslova za njegov uzgoj, te time i najbolji prirast (Dalsgaard et al., 2013). Formulirane hrane dostupne na tržištu su pogodnije za dobar prirast, međutim optimalan sastav koncentrovane hrane za razvoj jaja smuđa je i dalje neistražen. Jedina studija koja se bavila ishranom pri sazrevanju gonada smuđa objavila je komercijalno neprihvatljive rezultate pri korišćenju isključivo formulirane hrane (Wang et al., 2009b). Sa druge strane, ova industrija je prilično mlada, te velika ulaganja u proizvodnju specijalne hrane za matična jata smuđa i dalje nisu ekonomski opravdana. U tom smislu, živa riba (plen) pronađena je kao pogodnija za razvoj gonada u toku hladnog perioda indukcije mresta. Udeo korovske ribe je neizostavan u ukupnom izlovu ribe iz ekstenzivnih i polu-intenzivnih jezerskih sistema uzgoja (Marković, 2010), te kao takva predstavljaju relativno jeftino rešenje za kvalitetnu ishranu matice smuđa u jezerskom sistemu tokom hladnijeg perioda godine. Međutim, prezimljavanje riba iz RAS-a u jezerskom sistemu može se dovesti u pitanje sa različitih aspekata. Naime, ribe naviknute na život u potpuno kontrolisanim zatvorenim sistemima mogle bi imati problem sa aklimatizacijom na ekstenzivni sistem i prelaskom ishrane sa inertne na živu hranu. To bi moglo da ima negativne posledice na kvalitet sazrevanja gonada i konačno moglo bi da utiče i na stepen preživljavanja matice koje predstavljaju prilično redak, izrazito tražen i iznad svega skup materijal.

Ocenjivanje reproduktivnih performansi matice iz porodice Percidae je bila tema nekoliko prethodnih istraživanja (Henrotte et al., 2010a; Žarski et al., 2011; Castets et al., 2012; Žarski et al., 2012b; Žarski et al., 2017). Postoji nekoliko grupa parametara kojima se može oceniti uspeh mresta i kvalitet reproduktivnog materijala. Najčešće su se studije bazirale na stopi oplodnje, preživljavanju embriona, izvaljivanju larvi kao i morfološkim karakteristikama samih larvi (Schaerlinger i Žarski, 2015). U nekoliko studija od interesa je bio i biohemijski sastav jaja (Wang et al., 2009b; Khemis et al., 2014). Napori su uloženi kako bi se što preciznije definisali indikatori kvaliteta reproduktivnog materijala. Naime, od izuzetnog je značaja precizno odrediti prediktivne indikatore kvaliteta kako lošiji nasadni materijal ne bi bio korišćen u proizvodnji. Uzimajući u obzir činjenicu da je preživljavanje u toku larvalnog i ranog juvenilnog perioda smuđa označeno kao usko grlo cele proizvodnje (Ruuhijärvi et al., 1991; Mani-Ponset et al., 1994; Hilge i Steffens, 1996), ovakvi prediktori bi bili od izuzetnog značaja. Međutim, do sada tačan odnos između svih ovih parametara nije definisan (Schaerlinger i Žarski, 2015). Stoga su potrebna nova istraživanja sa što širim opsegom analiziranih parametara radi definisanja veza među indikatorima kao i konačnog

definisanja pokazatelja. U tom smislu, kao krajnju ocenu kvaliteta reproduktivnog materijala mogli bismo definisati prilagodljivost nasadnog materijala – larvi na uslove intenzivnog uzgoja. Ovakva analiza je prilično retka, a prema nekoliko studija koje su je uključile mogla bi biti izuzetno informativna (Dabrowski et al., 2000; Žarski et al., 2011). Konačno, kako bi opisali reproduktivne performanse matica, potrebno je analizirati što veći broj parametara koji bi mogli biti definisani kao prediktivni i dalje oceniti sa stanovišta preživljavanja dobijenog nasadnog materijala.

1.5. PROIZVODNJA MLADI SMUĐA POGODNE ZA UZGOJ U RAS-U

Larve smuđa su izuzetno sitne, duzine 4 - 5.5 mm i individualne mase oko 0,5 mg (Szkudlarek i Zakęś, 2007; Steinfeldt, 2015). Najčešće se izvaljuju nakon pigmentacije očiju, mada se dešavaju i izvaljivanja pre pigmentacije u zavisnosti od uslova inkubacije jaja (Krišt'an et al., in press; Ljubobratović et al., 2017). Novoizvaljene larve otvaraju usta tri do četiri dana nakon izvaljivanja. Prvi plen smuđa u prirodi je sitniji zooplankton iz reda Rotatoria i larvi *nauplii* reda Copepoda, dok kasnije prelazi na ishranu krupnijim planktonskim organizmima i larvama tvrdokrilaca (Verreth i Kleyn, 1987). U odnosu na to da li imaju ili ne pneumatični kanal (*ductus pneumaticus*) koji povezuje riblji mehur sa jednjakom, košljoribe se dele na fizostome i fizokliste (Summerfelt, 2013). Naime, dok pneumatični kanal prvih ostaje u funkciji i nakon larvalnog razvića, kod fizoklista ovaj specifični organ nestaje ili gubi funkciju nakon larvalnog razvića. Smuđ je fizoklistična vrsta, a ispunjavanje mehura se dešava u toku njegovog larvalnog razvoja, najčešće u periodu 7-15 dana po valjenju (DPV) (Demska-Zakęś et al., 2003; Steinfeldt, 2015). Dakle, larve smuđa započinju egzogenu ishranu pre ispunjavanja mehura, što, zbog smanjenih plivačkih mogućnosti otežava uspeh njihovog lova za šta je veoma važno postojanje obilja plena. Novoizvaljene larve smuđa su izrazito pozitivno fototoksične, dok u periodu ranog juvenilnog stadijuma počinje razvoj retine i time njihova prilagođenost na uslove smanjene vidljivosti (Luchiari et al., 2006, 2009; Tielmann et al., 2016). Zajedno sa razvojem retine, jednomesečni mladunci počinju piscivornu ishranu koja nadalje ostaje isključivo piscivorna tokom života (Antalfi, 1979).

U ekstenzivnim jezerskim uslovima gnezda ili larve starosti 3-4 DPV se nasađuju u jezera u gustini 100-500 hiljada po hektaru (Policar et al., 2012, 2013b). Pravovremenim punjenjem jezera do polovine maksimalnog nivoa 5-7 dana pre nasađivanja larvi, odnosno tretmanom insekticidima, pospešuje se razvoj sitnijih planktonskih organizama pogodnih za

prvu ishranu larvi i ujedno sprečava razvoj krupnijeg zooplanktona, potencijalno štetnog po novoizvaljene larve (Bojčić et al., 1982). Organskim i veštačkim đubrivima i podizanjem nivoa vode u jezeru dve nedelje nakon nasađivanja pospešuje se razvoj krupnijeg zooplanktona iz reda Cladocera koji čini osnovu dalje ishrane dvonedeljnih juvenilnih stadijuma. U zavisnosti od temperature vode, pet do šest nedelja nakon nasađivanja mladunci dostižu dužine 30-40 mm, kada se dešava prelaz na piscivornu ishranu i prvi znaci kanibalizma. To je vreme kada je izlov mlađi neophodan kako bi se sprečili veći gubici.

Za potrebe uzgoja u intenzivnom sistemu, osnovni preduslov jeste da mlađ konzumira industrijsku koncentrovanu hranu. U slučaju smuđa, koji je izrazito predatorska i piscivorna vrsta, ovo je osnovna prepreka u uspostavljanju intenzivne kulture. Definisane su dve tehnologije proizvodnje mlađi naviknute na suhu hranu - proizvodnja mlađi isključivo u RAS-u (Kestemont et al., 2007; Szkudlarek i Zakęś, 2007) i proizvodnja mlađi kombinacijom ekstenzivnog jezerskog sistema i RAS-a (Zakęś i Szkudlarek, 2007; Policar et al., 2013a). Za potrebe održanja higijenske sigurnosti uzgoja u RAS-u, od izuzetnog je značaja ribu ne dovoditi u kontakt sa spoljašnjim objektima. Takođe, uzgoj larvi u potpuno kontrolisanim uslovima otklanja zavisnost od sezone i čini mogućom proizvodnju mlađi tokom cele godine. Međutim, ovakav način proizvodnje je tehnološki vrlo zahtevan, a optimalni uslovi sredine, kvalitet i načini ishrane i dalje nisu do detalja definisani što je neophodno za stabilnu proizvodnju. Stoga je broj mrestilišta koja proizvode mlađ u RAS-u izuzetno mali (Steenfeldt et al., 2015). Kako bi povećali proizvodnju, korišćenje mlađi iz jezerskog odgoja je definisano kao atraktivna alternativa. Zbog još uvek niske proizvodne efikasnosti u RAS-u, a i dalje rastuće potražnje za mlađu naviknute na koncentrovanu hranu, i pored pomenutih nedostataka, ovakav oblik proizvodnje je široko zastupljen i po nekim studijama mlađ proizvedena kombinacijom RAS i ekstenzivnog sistema je izuzetno povoljnih karakteristika (Policar et al., 2016).

Zbog navedenih karakteristika larvi smuđa, kultura larvi ove vrste je izuzetno delikatna i specifična. Naime, ceo tehnološki proces treba uskladiti sa larvalnim razvićem (Slika 1.10). Shodno tome da na početku egzogene ishrane larve nemaju mehur, posebnu pažnju treba posvetiti načinu toka vode, koji sa sobom nosi i specifičnosti primene različite hrane (živa, odnosno koncentrovana hrana). Naime, tečenje vode od dna prema površini u tanku cilindrično-konusnog oblika je definisano kao optimalno za razvoj larvi tokom perioda ispunjavanja mehura, shodno tome da su plivačke sposobnosti larvi ograničene (Steenfeldt, 2015). Takođe, ovakav uzdižući tok izuzetno je pogodan za suplementaciju žive hrane jer je

čini dostupnom mlađi duže vremena u vodenoj koloni. Kakogod, u takvom toku, zaostala koncentrovana hrana koja se taloži na dnu tanka predstavlja svojevrstan problem shodno svežoj vodi koja tokom kruženja prvobitno prolazi u okolini raspadajuće hrane. S druge strane, digestivni trakt larvenih i mladih uzrasnih kategorija riba je izuzetno nerazvijen (Mani-Ponset et al., 1994; Ostaszewska et al., 2005; Kowalska et al., 2006) i razvoj želuca počinje tek sa 15-20 DPV. Uzimajući u obzir oba aspekta, važno je ribu hraniti lako svarljivom živom hranom tokom prve dve nedelje života. Nekoliko studija se bavilo optimalnim danom početka tranzicije ishrane larvi sa žive na suhu hranu. Dok su Kestemont et al. (2007) definisali optimalno vreme promene hrane na 18 DPV, analiza razvoja digestivnog trakta i enzimske aktivnosti zaključila je da su larve spremne za tranziciju već sa 15 DPV (Hamza et al., 2007). Ovaj dan se poklapa sa završetkom ispunjavanja mehura, kada se plivačke sposobnosti juvenila značajno poboljšavaju, te je u saglasnosti sa eventualnom promenom tipa toka vode sa uzdižućeg na cirkularni prilikom promene režima ishrane. Cirkularno tečenje vode obezbeđuje pogodnije mešanje sveže vode, a takođe i koncentrisanje zaostale hrane i fecesa u centru tanka, što olakšava održavanje higijene tanka. Iako su prethodno pomenute dve studije istraživale optimalno vreme početka promene tipa hrane, strategija ishrane, odnosno način prelaska sa žive na suhu hranu nisu bile predmet njihovog istraživanja već su koristile strategiju ranije definisanu za morske vrste. Shodno činjenici da, s jedne strane, suplementacija živom hranom zauzima većinu troškova proizvodnje juvenila u intenzivnom sistemu (Person Le Ruyet et al., 1993; Cahu i Zambonino Infante, 2001; Langdon, 2003), a sa strane razvoja ribe predstavlja kritičan momenat (Hamza et al., 2007), od izuzetnog je značaja definisati način i vremenski period aplikacije žive hrane tokom navikavanja ranih juvenilnih stadijuma na suhu hranu.

Pri navikavanju juvenila ekstenzivno gajenih u jezeru na formulisanu hranu i intenzivne uslove uopšte, treba imati u vidu da se radi o prilično velikoj promeni u njihovoj okolini i ishrani. Naime, gajenje larvi u jezerskim uslovima podrazumeva delimično prirodnu okolinu u ekstenzivnim uslovima i mali broj životinja po jedinici zapremine, dok se pri nasađivanju u intenzivni sistem gustina nasada višestruko povećava, a uslovi okoline bivaju potpuno zamenjeni veštačkim (Zakęs i Szkudlarek, 2007; Policar et al., 2013a). Takođe, dok se u jezeru ishrana sastoji od raznovrsnog zooplanktona i larvi tvrdokrilaca izuzetno povoljnog kvaliteta za razvoj mlade ribe, u intenzivnom sistemu riba mora što pre da pređe na ishranu koncentrovanom hranom kako bi nastavila svoj razvoj. U tom smislu, ovaj period se može okarakterisati kao kritičan za mladu životinju i bitan kako sa aspekta okoline, gde

gustina nasada igra značajnu ulogu, tako i sa aspekta ishrane. Takođe, studije su pokazale da poreklo riba, pre svega uticaj veštačke selekcije i rane domestikacije, može značajno da modifikuje način ponašanja i toleranciju na stresne veštačke promene kod potomstva (Ruzzante 1994; Ruzzante i Doyle, 1991; Huntingford, 2004). Iako su studije analizirale uticaj gustine nasada na uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi na suhu hranu (Molnar et al., 2004; Szkudlarek i Zakeš, 2007; Policar et al., 2013a), njihovi zaključci nisu potpuno usaglašeni, te to pitanje i dalje ostavljaju otvorenim. Obogaćivanje žive hrane vitaminom C se pokazalo vrlo korisnim kod larvi smuđa sa aspekta smanjenja deformacija i povećanja prirasta (Kestemont et al., 2007), dok pri navikavanju jezerske mlađi ovakva suplementacija nije ispitana. Shodno opisanom pozitivnom uticaju vitamina C na imuni sistem riba (Hardie et al., 1991; Nayak et al., 2007), suplementacija tokom kritičnog i stresnog perioda promene okoline mogla bi da ima značajan uticaj na konačni uspeh navikavanja na suhu hranu. Konačno, dok je u slučaju severnoameričkog smuđa *Sander vitreus* mehanička aplikacija hrane definisana kao optimalna tokom navikavanja ekstenzivno gajene mlađi na koncentrovanu hranu, u slučaju smuđa, poželjniji tip aplikacije (ručno ili mehanički) i dalje nije definisan (Zakeš i Szkudlarek, 2007; Policar et al., 2013a). U slučaju korišćenja prirodne hrane tokom perioda navikavanja, način aplikacije hrane je vrlo značajan, shodno činjenici da se prirodna hrana meša sa suvom hranom, što je čini nepogodnom za mehaničku aplikaciju (Horváth et al., 2013).



Slika 1.11. RAS za uzgoj larvi smuđa

2. CILJEVI I HIPOTEZE

Osnovni cilj istraživanja obuhvaćenih disertacijom je da se kroz četiri studije unapredi tehnologija uzgoja mlađi smuđa pogodne za intenzivni uzgoj u RAS-u.

Prva studija je posvećena evaluaciji reproduktivnih performansi matica smuđa proizvedenih u RAS-u nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima. S obzirom da je zimovanje riba u spoljašnjim uslovima blisko prirodnim sa aspekta indukcije mresta, a ishrana korovskim vrstama riba kao neizbežnim nusproduktom proizvodnje u ekstenzivnom i polu-intenzivnom sistemu bliska optimalnoj za divlje populacije, pretpostavka je da će ovaj oblik indukcije mresta dovesti do uspešnog sazrevanja gonada pre svega ispoljenog visokim procentom ovuliranih ženki i osnovnim reproduktivnim performansama ne značajno različitim u odnosu na referentnu divlju populaciju. Takođe, povoljan kvalitet ishrane u ovakvom sistemu zimovanja biće ispoljen sličnim masno-kiselinskim sastavom jaja u dve analizirane populacije, eksperimentalnoj i kontrolnoj. Konačno, bitan zadatak ove studije jeste da se evaluacijom nekoliko grupa parametara dodatno opišu pokazatelji kvaliteta dobijenog reproduktivnog materijala.

Druga studija ima za cilj definisanje optimalnog protokola ishrane larvi smuđa tokom promene načina ishrane sa živih nauplius larvi artemije na koncentrovanu hranu tokom kulture larvi u RAS-u. Iako je optimalno vreme početka tranzicije ishrane definisano prethodnim studijama, ova studija bi trebalo da opiše potrebno vreme i način suplementacije živom hranom koja bi, sa aspekta prirasta i preživljavanja larvi, rezultirala minimalnim posledicama koje bi promena tipa ishrane mogla da izazove. Pretpostavka je da će različite strategije prelaska sa žive na suhu hranu dovesti do značajnih razlika u krajnjem uspehu kulture larvi.

Treća studija ima za cilj da prouči tri važna faktora pri navikavanju jezerski negovane mesečnjaka smuđa na suhu hranu. Uprkos nekoliko prethodnih studija koje su opisale uticaj gustine nasada na uspeh navikavanja na suhu hranu, njihovi konačni zaključci nisu potpuno saglasni, te bi prvi eksperiment ove studije trebalo da da odgovor na pravac delovanja povećanja gustine nasada na uspeh ovog dela kulture. Shodno pokazanom uticaju obogaćivanja žive hrane vitaminom C tokom kulture larvi smuđa, kao i opisanom pozitivnom efektu ovog dodatka ishrani u toku adultnog stadijuma nekoliko vrsta, pretpostavka je da će obogaćivanje žive hrane tokom navikavanja jezerske mlađi na suhu hranu značajno

unaprediti uspeh ove procedure. Poslednji faktor od interesa biće način aplikacije suve hrane – ručno odnosno mehanički – sa stanovišta uspeha navikavanja na suhu hranu. S obzirom na prethodne studije koje su koristile različite načine aplikacije uz slične objavljene uspehe ovog perioda gajenja, pretpostavka je da ovaj faktor od interesa neće imati značajan uticaj na konačno preživljavanje i procenat naviknutih mladunaca na suhu hranu.

Poslednja studija ispitaće uticaj porekla mlađi na uspeh navikavanja na suhu hranu nakon jezerskog odgoja larvi kao i na njen dalji odgoj u RAS-u. Hipoteza je da će mlađ poreklom od intenzivno gajenih matrica ispoljiti bolje uzgojne performanse u odnosu na mlađ poreklom od divljih riba, te time ukazati na značaj domestikacije i potrebu za uspostavljanjem uzgajivačkih programa radi stabilizacije industrijskog uzgoja smuđa u RAS-u.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanja za potrebe doktorske disertacije izvedena su u eksperimentalnim sistemima Instituta za Ribarstvo i Akvakulturu NARIC HAKI, Sarvaš, Mađarska u periodu od 2013. do 2016. godine. Disertacija je obuhvatila nekoliko različitih tehnoloških procesa u upravljanju biološkog ciklusa smuđa – indukciju mresta u jezerima, veštački mrest u unutrašnjim postrojenjima, uzgoj larvi u RAS-u, ekstenzivni odgoj larvi u jezeru, te uzgoj mlađi u RAS-u.

Analize kvaliteta vode rađene su u eksperimentalnom RAS-u, pri svakodnevnom praćenju zasićenja kiseonikom i temperature vode, te u Laboratoriji za analizu kvaliteta vode, ÖVKI Centra za analizu okoline, Sarvaš, Mađarska, prilikom merenja pH vrednost te koncentracije azota u obliku amonijačnog i nitritnog jona. Za merenje sadržaja kiseonika i temperature vode korišćen je uređaj WTW Multi 350i. Merenja ostalih parametara kvaliteta su vršena prema akreditovanim protokolima ÖVKI Centra za analizu okoline:

Merenje pH vrednosti vode

Standard: MSZ EN ISO 10523:2012

Korišćen je instrument WTW inoLab pH-metar, dok je metod zasnovan na određivanju aktivnosti vodonikovih jona potenciometrijskim merenjem koristeći WTW SenTix 81 staklenu elektrodu i 3 mol Ag/AgCl referentnu elektrodu. Za kalibraciju su korišćeni puferski Hamilton Duracall 7,00±0,01 i 9,21±0,02. Tačnost merenja pH vrednosti je ± 0,05 jedinica.

Određivanje amonijačnog azota NH₄-N

Standard: MSZ EN ISO 11732:2005

Metod je zasnovan na Berthelot-ovoj reakciji reakciji i kvantifikovana je spektrofotometrijskom metodom. Amonijak reaguje sa alkalnim rastvorom fenola i natrijum hipohloritom dajući indofenol plavo. Natrijum nitroprusid se dodaje radi poboljšanja osetljivosti. Apsorpcija proizvoda reakcije je merena na 630 nm na instrumentu Lachat QuikChem 8500 FIA i direktno je proporcionalna originalnoj koncentraciji amonijuma u uzorku. Tačnost merenja je ± 10%, dok je donja granica osetljivosti 0,1 mg L⁻³ amonijačnog azota.

Određivanje nitritnog azota NO₂-N

Standard: MSZ EN ISO 13395:1999

Nitritni azot je određen deazotizacijom sulfanilamidom nadalje praćeno uparivanjem sa N-(1-Naftil)-etilendiamin dihidrochloridom. Proizvod je rastvorljiv u vodi, ljubičaste boje, očitavan na talasnoj dužini 520 nm na instrumentu Lachat QuikChem 8500 FIA. Tačnost merenja je $\pm 10\%$, dok je donja granica očitavanja koncentracija od $0,02 \text{ mg L}^{-3}$ nitritnog azota.

Sa aspekta dobrobiti životinja, celokupna procedura uzgoja i manipulacije ribom bila je usklađena sa pisanim protokolom NARIC HAKI-a i regulativom institutskog etičkog panela za životinje, koji je uspostavljen u skladu sa zakonom Republike Mađarske (10/1999. I. 27.). Pre letalnog uzorkovanja, larve su terminalno anestetizirane u rastvoru ulja karanfilića. Kao anestetik, u svim studijama je korišćena mešavina jednakog odnosa ulja karanfilića (Aromax, Mađarska) i 96% etanola (Sigma-Aldrich) rastvorenog u vodi mrestilišta u koncentraciji $0,1 \text{ mL L}^{-1}$. Ovaj način anestezije opisan je kao adekvatan za smuđa, prema studiji Krišt'an et al. (2012).

3.1. STUDIJA 1 – EVALUACIJA REPRODUKTIVNIH PERFORMANSI MATICA SMUĐA UZGOJENIH U RAS-U NAKON ZIMOVANJA U SPOLJAŠNJIM JEZERSKIM OBJEKTIMA

3.1.1. POREKLO MATICA I NAČIN ZIMOVANJA

Matično jato je proizvedeno u RAS-u kompanije H & H Carpio Fish Farming Ltd, Očard, Mađarska. Jezerski gajena mesečna mlađ naviknuta je na komercijalnu hranu i uslove RAS-a i dalje hranjena isključivo koncentrovanom hranom veličine peleta 1-8 mm, u skladu sa masom riba (Coppens International, Holandija). Prema proizvođačkoj deklaraciji, sastav koncentrovane hrane bio je sledeći: 49% protein, 10% mast, 8,3% pepeo, 0,8% sirova vlakna, i 1,3% ukupni fosfor. Sa 18 meseci starosti i rasponom mase 1-1,5 kg, sto jedinki je nasađeno u jezerski zimovnik snabdeven sa ribom plenom u oktobru 2014. Pri kraju novembra iste godine, sedam ženki i četiri mužjaka transportovani su u Institut za ribarstvo i akvakulturu NARIC HAKI, gde su nasađene u jezero snabdeveno ribom plenom. Pre nasađivanja u jezero, matice su u RAS-u držane u konstantnim uslovima foto-perioda od dvadeset časova dana (L) i četiri časa mraka (D). Nakon nasađivanja u spoljašnje jezerske objekte, fotoperiod je bio prirodan za datu geografsku dužinu, krećući se u rasponu od oko 12 L : 12 D početkom oktobra do 8.5 L : 15.5 D krajem decembra, te zatim produžujući obdanicu do oko 12L : 12 D tokom sezone mresta (kraj marta i početak aprila).

Polovinom oktobra 2014., divlje matice su izlovljene iz mrtvog toka reke Kriš, Mađarska, i transportovane u NARIC HAKI. One su takođe nasađene u jezero snabdeveno ribom plenom.

Divlje i RAS matice su nadalje podvrgnute zimovanju i indukciji sazrevanja gonada u zemljanim jezerskim objektima. Populacije su držane u odvojenim jezerima snabdevene vodom sa istog izvora. U oba jezera održavan je isti termalni režim i slična dostupnost ribe plena kojom će se hraniti matice. Divlji smuđevi (opsega mase 0,5 – 5 kg) držani su u jezeru površine 1000 m² u gustini 0,2 kg m⁻². RAS ribe (opseg mase 1 – 1,5 kg) nasađeni su u jezero površine 400 m² u gustini 0,1 kg m⁻². Oba jezera su nasađena ribom koja će služiti kao plen u biomasi jednakoj biomasi nasađenog matičnog materijala smuđa u jezeru. Riba plen individualne dužine 10-15 cm izlovljena je iz istog vodenog tela kao i divlji smuđ. Riba plen bila je sastavljena od sledećih vrsta: šnajder (*Alburnus alburnus*), crvenperka (*Scardinius erythrophthalmus*), bodorka (*Rutilus rutilus*), deverika (*Abramis brama*) i šaran (*Cyprinus carpio*). RAS ribe su označene PIT (Pasivni Integrisani Transponder) oznakama pre nasada u jezero, kao što su objasnili Zakęs i Hopko (2013b). Riba su anestezirane pre markiranja.

Početak aprila 2015., kada je temperatura vode u jezeru dostigla 11°C, matice uzgojene u RAS-u su izlovljene iz jezera i transportovane u unutrašnje postrojenje. Divlje matice su izlovljene dan kasnije. Šest ženki i četiri mužjaka slične mase kao RAS matice su izabrane i takođe transportovane u unutrašnje postrojenje. Pre nasađivanja u bazene, divlje ribe su takođe označene PIT oznakama, istom procedurom kao pri označavanju RAS riba.

Na taj način su formirane dve grupe matice – ribe uzgojene u RAS-u (RRF – eng. RAS reared fish) i divlje matice (WCF – eng. wild captive fish) - svaka sastavljena od šest ženki i četiri mužjaka. Grupe su nasađene u dva odvojena bazena zapremine 3 m³ u sistemu ponovnog korišćenja vode (WRS – eng. water reuse system), snabdevenog mehaničkim i biološkim filterom uz dnevno osvežavanje vode od 100%. Bunarska voda temperature 15 °C je korišćena kao voda za osvežavanje. Izmena vode u tankovima je podešena protokom od 100% izmene na čas. Voda je polako zagrevana sa 11 °C na 15 °C u toku dva dana i nadalje održavana na 15,6 ± 0,6 °C tokom konačne indukcije mresta. Fotoperiod je konstantno održavan 14L: 10D. Sedam dana nakon transporta ribe su podvrgnute hormonskoj indukciji humanim horionim gonadotropinom (eng. hCG – human chorionic gonadotropin) (Choragon, FerringInternational Center S.A., Švajcarska). Ženke su primile dve injekcije u razmaku od 24 časa (doze 200 i 300 IU kg⁻¹), dok su mužjaci injektirani jednom (doza 200 IU kg⁻¹) prilikom prvog hormonskog tretmana ženki. Nakon prve hormonske injekcije, ženke i mužjaci su smešteni u dva odvojena bazena.

3.1.2. EVALUACIJA REPRODUKTIVNIH PERFORMANSI MATICA

Kako bi pratili stanje konačnog sazrevanja ovocita (eng. FOM – Final Oocyte Maturation) i predvideli vreme ovulacije, ovocite su uzorkovane prilikom hormonske indukcije i svaka sledeća 24 časa do ovulacije. Biopsija ovocita vršena je savitljivim kateterom (cevčice za hranjenje odojčadi, veličine CH06). Ista tehnika korišćena je prilikom raspoznavanja polova. FOM stadijumi su određeni prema klasifikaciji definisanoj od strane Žarski et al. (2012a). Nakon što bi ženka dostigla stadijum VI, ovulacija je proveravana na svakih sat vremena blagim pritiskom na abdomen u predelu iznad genitalnog otvora. Prilikom ovulacije, ženka je anestetizirana u rastvoru ulja karanfilića i ikra je iscedena u suhu plastičnu posudu. Masa ikre i telesna masa ženke su zabeležene odmah nakon ceđenja (± 1 g). Na osnovu ovih podataka izračunat je pseudogonadosomatski indeks (PGSI) kao odnos mase iscedenih jaja i zbira mase iscedenih jaja i mase ženke. Mleč je prikupljen ceđenjem u špric (Kucharczyk et al., 2007) i korišćen za fertilizaciju u roku od 2 minuta. Jednake porcije mleča

dobijene od tri mužjaka iz odgovarajuće grupe, korišćene su za fertilizaciju svake ženke. Na 100 g suve ikre korišćen je 1 mL mleča i fertilizacija je obavljena u vodi mrestilišta. Nakon fertilizacije, uklanjanje adhezije jaja je obavljeno tridesetominutnom kupkom u rastvoru mleka (jedan litar mleka sa sadržajem masti 3.5% pomešana sa 7 L vode mrestilišta), te konačnom trominutnom kupkom u 25ml L⁻¹ suspenziji kaolinske gline (Szipöcz Kft, Budimpešta, Mađarska). Potom su jaja svake ženke smeštena u zaseban inkubator tipa “Zuger” zapremine 7 L (ukupno 12 inkubatora) i nivo jaja u inkubatoru je obeležen. Sedamdeset dva časa nakon fertilizacije, nivo jaja je označen i udeo živih jaja ocenjeen mikroskopskim posmatranjem tri uzorka od 100 do 150 jaja za svaku ženku. Tako je preživljavanje embriona 72 h nakon fertilizacije je određen prema sledećoj formuli:

$$72\text{h preživljavanje embriona} = \frac{\text{zapremina jaja 72 h nakon fertilizacije}}{\text{zapremina jaja prilikom smeštanja u inkubator}} * \text{procenat živih jaja}$$

Zapremina jaja u svakom od odgovarajućih inkubatora je merena nakon završenog izvaljivanja, sa tačnošću ± 10 mL.

Pri početku valjenja 200 živih jaja je izvađeno iz svakog inkubatora i smešteno u mrežnu komoru obešenu na vrh odgovarajućeg inkubatora, radi evaluacije procenta izvaljivanja. Novoizvaljene larve su izlovljavane iz komora tri puta na dan i brojane, dok je do 10 larvi po brojanju po komori slikano ispod stereoskopskog mikroskopa. Ukupno 30 larvi svake ženke, slikane u različitim vremenima tokom perioda izvaljivanja, korišćene su radi evaluacije totalne dužine larvi. Dužina larvi izračunata je u programu ImageJ 1.34. (Rasband, 1997–2011), kao što su Khemis et al. (2014) prethodno opisali. Matice su čuvane u unutrašnjem postrojenju deset dana nakon poslednje ovulacije radi praćenja mortaliteta. Jaja su inkubirana u protočnom sistemu snabdevenom bunarskom vodom. Temperatura vode tokom inkubacije je bila 14,3 ± 0,9 °C, dok je zasićenost vode kiseonikom na ispustu inkubatora održavana konstantno iznad 90%.

3.1.3. UZGOJ LARVI TOKOM PRVE NEDELJE EGZOGENE ISHRANE (4-11 DPV)

Približno 40.000 larvi iz svakog inkubatora je nakon izvaljivanja smešteno u dva odvojena protočna tanka zapremine 300 L, po jedan tank za svaku grupu (RCF i WCF). Ovo je urađeno kako bi larve svake populacije bile nasumično razvrstane tokom odmarajućeg perioda (od izvaljivanja do početka egzogene ishrane), u skladu sa uobičajenom praksom

mrestilišta. Četvrtog dana nakon izvaljivanja, larve su transportovane u RAS sastavljen od šest crnih tankova zapremine 80 L. Tri tanka nasadena su RRF larvama, dok su tri nasadena WCF larvama, po principu slučajnosti. Početna gustina nasada je bila 2.400 larvi po tanku, odnosno 30 L⁻¹. Hranjenje je počelo sledećeg dana, 5 DPV. Ribe su hranjene isključivo nauplius larvama artemije (AF poreklo, INVE, Dendermonde, Belgija). Živa hrana davana je ručno, pet puta na dan (u 11, 14, 18, 23 i 03 časova), u jednakim porcijama pri svakom hranjenju (gustina pri hranjenju 3,6 nauplija po ml). Ukupna količina date artemije je bila 600 nauplija po larvi po danu. Tankovi su čišćeni dva puta na dan. U vreme svakog čišćenja zabeležen je broj mrtvih larvi. Konstantni fotoperiod od 24 L : 0 D je održavan tokom uzgoja larvi. Intenzitet svetla na površini vode je bio 20-50 lux, izmeren Voltcraft MS-1300 digitalnim luksmetrom (Rapid Electronics Limited, Severalls Lane, Velika Britanija). Voda u RAS-u je osvežavana pijaćom vodom vodovodne mreže sa ukupnom izmenom 25% dnevno. Protok vode kroz tankove je podešen na 33% izmene na čas. Zasićenost kiseonikom i temperatura vode su mereni na ispustu svakog tanka svakodnevno. Ispitivanje osnovnih parametara kvaliteta vode (amonijačni azot, nitritni azot i pH) je vršeno na nasumično uzetom uzorku sa ispusta jednog tanka 5, 8 i 11 DPV. Pre transporta u RAS, temperatura vode u protočnim tankovima je bila 14,2 ± 0,8 °C i zasićenost vode kiseonikom iznad 90%. U RAS-u, temperatura vode je bila 18,1 ± 0,9 °C, dok je zasićenost vode kiseonikom bila iznad 92%. Izmereni parametri kvaliteta vode su bili: amonijumski azot 0,1 ± 0,0 mg L⁻¹; nitritni azot 0,02 ± 0,00 mg L⁻¹; pH 8,4 ± 0,1.

3.1.4. MASNO-KISELINSKI SASTAV SUVE IKRE

Dva grama sveže iscedenih jaja svake ribe su smešteni u odvojene bočice (svaka bočica za jednu ženku) i skladišteni na -20 °C. Zbog tehničkih problema tokom uzorkovanja i primarnog skladištenja, uzorci od po jedne ribe iz obe grupe su izgubljeni, te je analiziran masno-kiselinski sastav jaja od po pet ženki po grupi. Masno-kiselinski sastav suvih jaja određen je kapilarnom gasnom hromatografijom. Ukupni lipidi su podeljeni na polarne (uglavnom fosfolipidi – PL) i neutralne lipide (uglavnom trigliceride – NL) silika kertridžom pakovanim aminopropil spojenim fazama (500 mg/3 mL SIGMA Supelclean SPE-NH 2 kertridž) prema metodu opisanom od strane Kaluzny et al., 1985. Takođe, urađena je provera čistoće metodom tankoslojne hromatografije (TLC – thin layer chromatography).

Masti su ekstrahovane iz uzoraka mešavinom hloroforma i metanola u odnosu 2:1. Ekstrakti su prečišćeni metodom Folch et al. (1957). Uzorci ukupnih lipida su

transesterifikovani u metanolnom rastvoru hlorovodonične kiseline (Stoffel et al., 1959). Metil estri masnih kiselina rastvoreni su na silika fuzionisanoj kapilarnoj koloni (DB-225) u AGILENT (HP) sistemu gasne hromatografije (tip "6890N") opremljenoj sa detektorom plamene jonizacije (FID – flame ionisation detector) i detektorom masenog spektrometra (MSD – mass spectrometry detector, tip "5973N"). Metil estri masnih kiselina identifikovani su autentičnim primarnim (SUPELCO, Bellefonte, Nju Džerzi) i sekundarnim standardima (na primer laneno ulje, ulje jetre bakalara, itd.) i prema odnosu između logaritama relativnih vremena retencije i broja ugljenika masnih kiselina. Koncentracije masnih kiselina izražene su kao procenat mase masnih kiselina uzorka, ocenjene faktorom relativnog odgovora i molarne koncentracije metil estra masnih kiselina (Ackman i Sipos, 1964a; 1964b).

3.1.5. STATISTIČKA ANALIZA

Podaci su prikazani u formi aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD). Pre analize, sve procentne varijable su arcsin transformisane. Distribucija varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnov testom. U slučaju normalne distribucije, razlike između grupa analizirane su t-testom za nezavisne uzorke, dok je Mann-Whitney U test korišćen u slučaju nepoznate distribucije. Nivo značajnosti je postavljen na $P \leq 0,05$. Analiza je urađena u SPSS 22.0 programu (IBM, Njujork, Njujork, SAD).

3.2. STUDIJA 2 – UTICAJ PROTOKOLA ISHRANE TOKOM PRELASKA SA ŽIVE NA KONCENTROVANU HRANU NA RAST I PREŽIVLJAVANJE LARVI SMUĐA

3.2.1. EKSPERIMENTALNA POSTROJENJA I UZGOJ LARVI

Divlje matice smuđa zimovane su u jezerima Instituta za ribarstvo i akvakulturu NARIC HAKI, Sarvaš, Mađarska. Izlov matice iz jezera i prenos u unutrašnje objekte je urađen na samom početku sezone mresta, početkom aprila 2013. Mrest je urađen metodom po Rónyai (2007). Ovulacija ženki indukovana je sa dve injekcije ekstrakta šaranske hipofize, svaka u koncentraciji 3 mg kg^{-1} , uz 24 časa razmaka između injekcija. Mužjaci su indukovani jednom injekcijom istog preparata u koncentraciji 2 mg kg^{-1} . Matice su nasade u paru (mužjak – ženka) u razdvojene komore dimenzija $1 \times 1 \text{ m}$ u koje su smeštena veštačka gnezda. U svakoj komori pozicionirano je po jedno gnezdo u centralnom delu osnove. Nakon sto je uočen prvi mrest, provera ovulacije ženki vršena je na svaka dva časa. Nakon uočene ovulacije, jaja od ukupno tri ženke su iscedena u suve plastične činije. Jaja svake ženke su oplodena mlečom dva mužjaka. Uklanjanje adhezije jaja je urađeno mešanjem jaja u rastvoru mleka u trajanju od jednog časa. Nakon inkubacije i valjenja, oko 10.000 trodnevni larvi nasade u tank zapremine 250 L sive boje u sklopu RAS-a. Početna gustina nasada od 40 larvi L^{-1} je u saglasnosti sa preporukama Szkudlarek i Zakęs (2007) za novoizvaljene larve. U svrhu poboljšanja uspeha naduvavanja ribljeg mehura, površina vode čišćena je površinskim duvajućim čistačem (eng. surface skimmer), koji je čišćen tri pita dnevno. Od 4 do 10 DPV larve su hranjene isključivo sveže izvaljenim nauplius larvama artemije (AF poreklo, INVE, Dendermonde, Belgija).

3.2.2. EKSPERIMENTALNI SISTEM, USLOVI SREDINE I ODRŽAVANJE

Jedanaestog DPV larve su premeštene u eksperimentalni RAS sastavljen od 12 tankova tamno zelene boje, opremljen mehaničkim i biološkim filterom. Ukupna zapremina vode u svakom tanku pojedinačno bila je 20 L. U svaki tank nasade u je 340 larvi (prosečna masa $2,40 \pm 0,17 \text{ mg}$). Gustina nasada od 17 larvi po litru je u saglasnosti sa preporukama Szkudlarek i Zakęs (2007) za larve datog uzrasta. Temperatura vode i koncentracija rastvorenog kiseonika su mereni svakodnevno u 15 časova u svim tankovima. Uzorci vode za analizu azotnih jedinjenja uzimani su dva puta nedeljno (ponedeljak i četvrtak) sa ispusta tankova. Rastoreni kiseonik se kretao između 7 i $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, dok su amonijum i nitriti bili ispod $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Temperatura vode je održavana na $22,6 \pm 0,6 \text{ }^\circ\text{C}$. Protok vode u svakom

tanku je bio $0,8 \text{ L min}^{-1}$ uz laganu aeraciju. Neonske lampe od 100 W okačene 80cm iznad tankova su osvetljavale tankove. Tokom eksperimenta održavan je konstantan fotoperiod od 14L : 10D. Svetlo je uključivano u 7 časova, što je pratilo jednočasovno čišćenje tankova, dok je svetlo gašeno u 21 čas nakon polučasovnog večernjeg čišćenja tankova. Čišćenje se sastojalo od usisavanja nepojedene hrane i uginulih larvi, te pranja zidova tankova. Hranjenje je započinjano u 8 časova, dok je poslednje hranjenje tokom dana vršeno u 20 časova.

3.2.3. DIZAJN EKSPERIMENTA

Tokom eksperimenta korišćena je starter hrana za larve Perla Larve Proactive (Skretting, Hendrix Spa, Mozzecane, Italija). Po proizvođačkoj deklaraciji, sastav hrane je bio sledeći: vlažnost 8,1%, protein 62%, mast 11%, pepeo 10% i vlakna 0,8%. Larve u svim tankovima hranjene su na svaka dva časa od 8 do 20 časova sa 700-800 nauplija po larvi po danu od 11 do 14 DPV. Tranzicija sa žive na suhu hranu i eksperimentalni protokoli ishrane su započeti 15-og DPV. Ukupno četiri protokola ishrane postavljena po potpuno slučajnom planu su ispitivana u tri ponavljanja. Protokoli su se razlikovali prema načinu suplementacije suve hrane tokom tranzicije – Prihrana (CF) odnosno Dohrana (SF) – oba u trajanju od četiri, odnosno sedam dana (Slika 2.1). Prihrana je izvedena kroz postepeno smanjenje datih nauplija artemije kroz 25 % odnosno 14% dnevno, dok je dohrana izvedena naglom promenom ishrane na koncentrovanu hranu uz dohranu artemijom pri poslednjem dnevnom obroku, datom u izobilju. U tom smislu, tretmani su:

CF-19: Prihrana naupliima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;

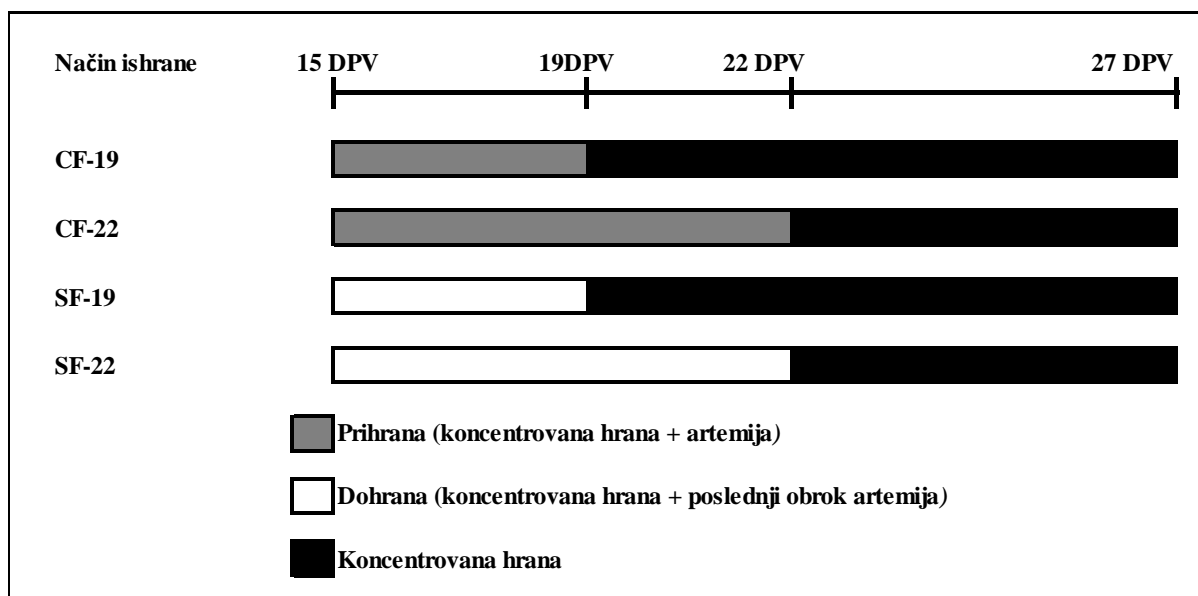
CF-22: Prihrana naupliima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;

SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnom obrokom od 15 do 19 DPV;

SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnom obrokom od 15 do 22 DPV.

Nivo hranjenja koncentrovanom hranom je bio 0,5 g po tanku, po danu, tokom perioda tranzicije, odnosno 1g po tanku po danu nakon tranzicije do kraja eksperimenta (27 DPV). Tokom i nakon perioda tranzicije, hranjenje je obavljano svaka dva časa, odnosno tri časa od 8 do 20 časova. Svaki tank je čišćen dva puta dnevno i tom prilikom su prebrojavana

uginuća. Tokom poslednjeg dana eksperimenta, 27 DPV, individualna masa i totalna dužina su izmerene kod svih preživelih riba sa preciznošću merenja od 0,01 mg, odnosno 0,1 mm.



Slika 2.1. Shematski prikaz protokola ishrane tokom tranzicije sa žive na koncentrovanu hranu.

3.2.4. RAČUNATI PARAMETRI

Preživljavanje, kanibalizam i prirast su izračunati prema sledećim formulama:

$$\text{Izračunat mortalitet (\%)} = 100 N_d \times N_i^{-1}$$

$$\text{Preživljavanje (\%)} = 100 N_h \times N_i^{-1}$$

$$\text{Kanibalizam (\%)} = 100 (N_m \times N_i^{-1})$$

$$\text{Specifična stopa rasta (SGR, \% dan^{-1})} = 100 (\ln W_f - \ln W_i) \times \Delta T^{-1}$$

$$\text{Dnevna stopa rasta (DGR, mg dan^{-1})} = (W_f - W_i) \times \Delta T^{-1}$$

Gde su:

N_i ; N_d ; N_h i N_m predstavljaju broj početno nasađenih, uginulih, prebrojanih, odnosno nestalih riba ($N_m = N_i - N_d - N_f$);

W_i i W_f - početna, odnosno krajnja telesna masa (mg);

ΔT - trajanje eksperimenta (dani).

Konačno, prinos (Y) je izračunat 27 DPV i izražen kao produkcija ribe po jedinici zapremine (g L^{-1}).

3.2.5. STATISTIČKA ANALIZA

Podaci su prikazani u formi aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD). Pre analize, sve procentne varijable su arcsin transformisane. Distribucija varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnov testom. Homogenost varijansi je ocenjena Levene-ovim testom. U slučaju normalne distribucije promenljivih i homogenih varijansi, dalja analiza vršena je jednosmernom analizom varijanse (ANOVA) i Dankanovim post-hoc testom. U slučaju nepoznate distribucije, odnosno nehomogenih varijansi, promenljive su analizirane Kruskal-Wallis testom, dok su u slučaju pokazanih značajnih razlika među tretmanima, pojedinačne razlike testirane Mann-Whitney U testom. Nivo značajnosti je postavljen na $P \leq 0.05$. Analize su rađene u korišćenjem SPSS 22.0 programa (IBM, Njujork, Njujork, SAD).

3.3. STUDIJA 3 – UTICAJ GUSTINE NASADA, TEHNIKE HRANJENJA I OBOGAĆIVANJA VITAMINOM C NA NAVIKAVANJE NA KONCENTROVANU HRANU JEZERSKI GAJENIH MLADUNACA SMUĐA

3.3.1. POREKLO RIBA I JEZERSKI ODGOJ MLADI

Za ovu studije, korišćena su gnezda sa oplodjenim jajima dobijena mrestom opisanim u studiji 2. Dva dana nakon oplodjenja, gnezda su prebaćena iz komora u laboratorijskim uslovima u jezero površine 0,17 ha prethodno đubrenim stajskim goveđim đubrivom. Izlov mladi obavljen je 38 dana nakon nasađivanja gnezda, kada je 5.000 mladunaca (prosečna individualna masa $1,1 \pm 0,3$ g) transportovano u unutrašnje eksperimentalno postrojenje Instituta za ribarstvo i akvakulturu NARIC HAKI, Sarvaš, Mađarska. Ribe su smeštene u dva tanka vodene zapremine od po 300 L u protočnom sistemu snabdevenom jezerskom vodom, gde su dezinfikovane u tridesetominutnoj kupki formalina koncentracije 100 mg L^{-1} . Nekoliko časova nakon kupke, ribe su distribuirane u osamnaest tankova zapremine 275 L postavljenom u eksperimentalnom RAS-u, sastavljenom od sedimentacionog i biološkog filtera. Tankovi su pokriveni crnom folijom uz ostavljen otvor za hranjenje dimenzija 25×10 cm. Ovo je učinjeno prema preporukama Howey et al. (1980).

3.3.2. PROCEDURA NAVIKAVANJA MLADI NA KONCENTROVANU HRANU

Ogled je trajao ukupno 30 dana. Komercijalna hrana Aller Futura EX (Aller Aqua A/S, Allervej 130, 6070 Christiansfeld, Danska, dimenzije peleta 0,8-1,3 mm, sa 64% proteina, 14% masti, 10,2% pepela, 1,3% vlakana i 1,5% ukupnog fosfora) je korišćena za navikavanje na koncentrovanu hranu. Tokom prvih 15 dana, pored koncentrovane hrane, ribe su hranjene živom hranom, *Daphnia* spp. i *Tubifex* spp. (*Daphnia* i *Tubifex* nadalje). Režim hranjenja je menjan na svakih 5 dana prema sledećem rasporedu:

Dani 1 – 5 – ponuđena je koncentrovana hrana u dnevnoj dozi od 2,5% početne nasađene biomase uz dodavanje *Daphnia* u količini od 20% početne nasađene biomase;

Dani 6 – 10 – ponuđena je koncentrovana hrana u dnevnoj dozi od 5% početne nasađene biomase uz dodavanje *Tubifex* i *Daphnia* svaki u količini od po 5% početne nasađene biomase;

Dani 11 –15 – ponuđena je koncentrovana hrana u dnevnoj dozi od 5% početne nasađene biomase uz dodavanje *Tubifex* u količini od 2,5% početne nasađene biomase;

Nadalje do kraja eksperimenta, riba je hranjena isključivo koncentrovanom hranom u dnevnoj količini od 5% od početne nasadene biomase. Mehaničke hranilice (FIAP trakasta hranilica, Aquacultur Fishtechnik, Germany) su korišćene za konstantnu aplikaciju suve hrane, od 9 do 19 časova. Živa hrana davana je ručno u četiri jednaka obroka, u 9, 12, 15 i 18 časova.

3.3.3. DIZAJN EKSPERIMENTA

Postavljena su dva paralelna eksperimenta istovremeno po potpuno slučajnom planu, u istom sistemu, u ukupno osamnaest eksperimentalnih jedinica (tankova).

3.3.3.1. Ogled 1 – Efekat gustine nasada na uspeh navikavanja mlađi smuđa na koncentrovanu hranu

Za evaluaciju uticaja gustine nasada na uspeh navikavanja na suhu hranu, jezerski uzgojena mesečna mlađ je nasadena u devet tankova, zarad ispitivanja tri gustine nasada, u tri replikacije, po sledećim tretmanima:

Redak – početna gustina nasada 150 riba po tanku ($\approx 0,5$ riba L^{-1});

Umeren – početna gustina nasada 300 riba po tanku (≈ 1 riba L^{-1});

Gust – početna gustina nasada 450 riba po tanku ($\approx 1,5$ riba L^{-1}).

3.3.3.2. Ogled 2 – Efekat tehnike hranjenja i obogaćivanja žive hrane vitaminom C

Početna gustina nasada u ovom ogledu je bila 140 riba po tanku. Kako bi ispitali uticaje obogaćivanja žive hrane vitaminom C i tehnike hranjenja koncentrovanom hranom, ogled je postavljen i sastojao se iz dva dvo-grupna poređenja, uz kontrolni tretman (“Feeder”) zajednički za oba poređenja. Ukupno tri grupe postavljene su u tri replikacije prema sledećim tretmanima:

Kontrola (“Feeder”) – ribe su hranjene standardnom procedurom objašnjenom za prethodni ogled;

Vitamin C (“VitC”) – ribe su hranjene istom procedurom kao kontrola, s tom razlikom što je *Daphnia* obogaćena vitaminom C neposredno pre aplikacije (detalji u nastavku teksta);

Ručno hranjenje (“Hand”) – umesto konstantne primene suve hrane mehaničkom hranilicom, ribe su hranjene ručno na svaka 3 časa od 8 do 20 časova.

3.3.4. UZORKOVANJE, PRIKUPLJANJE PODATAKA I ANALIZE PARAMETARA

Na uzorku od 30 riba izmerena je početna individualna masa ($\pm 0,05\text{g}$) i individualna totalna dužina ($\pm 1\text{ mm}$) prilikom nasadivanja u eksperimentalni sistem. Očigledni kanibali uklanjani su iz tankova nakon svakih pet dana eksperimenta (dan 6, 11, 16, 21 i 26) i računati u stopu kanibalizma. Kanibali su određeni vizuelno prema deformisanom obliku abdomena. Tankovi su čišćeni dva puta dnevno, u 7 i 19 časova, kada je beležen broj mrtvih individua. Na kraju eksperimenta, dana 31, izmerena je individualna masa svim preživelim ribama ($\pm 0,05\text{g}$) i na uzorku od deset naviknutih riba izmerena je individualna totalna dužina ($\pm 1\text{ mm}$). Razlika između naviknutih i nenaviknutih riba bila je vidljiva prema fenotipskim karakteristikama, shodno izgadnelosti nenaviknutih riba, kao sto su Horváth et al. (2013) objasnili. Tako, ribe su podeljene u dve grupe, naviknute i izgadnele.

Radi obogaćivanja žive hrane vitaminom C u VitC tretmanu, izmerene porcije *Daphnia* su držane u rastvoru L-askorbinske kiseline (Sigma-Aldrich, Sent Luis, Mizuri), koncentracije 1g L^{-1} u trajanju od jednog časa neposredno pred hranjenje. Na dan 1, 2 i 3, uzorak od 1g obogaćenih i neobogaćenih *Daphnia* je uzet za analizu sadržaja vitamina C. Na dan 13, jedna riba po tanku je uzorkovana iz tretmana VitC i Feeder radi analize sadržaja vitamina C u telu ribe. Koncentracija vitamina C u telu *Daphnia* i tkivu ribe je određena HPLC hromatografijom reverznih faza u izokratskim uslovima, po metodu objašnjenom od strane Papp et al. (1998). Uzorci ($\approx 1\text{g}$) su deproteinizirani perhlornom kiselinom nakon ekstrakcije puferom natrijum acetat (pH 4,8), te nadalje korišćeni za determinaciju L-askorbinske kiseline. Ukupan sadržaj L-askorbinske kiseline je oksidovan specifičnom enzimskom reakcijom (askorbat oksidazom) radi korekcije pozadinske emisije/apsorpcije. Radi određivanja ukupne koncentracije vitamina C, L-dehidroaskorbinska kiselina je redukovana 1,4 – ditiotreitolom. Hromatogrami su razvijeni na Waters HPLC sistemu koristeći $0,04\text{ mol L}^{-1}$ natrijum acetata uz $0,05\text{ mol L}^{-1}$ EDTA-t (etilen diamin tetra sirćetna kiselina i natrijum lauril etar sulfata) i $0,5\text{ mol L}^{-1}$ puferu tiobarbiturne kiseline (TBA) na pH 3,76; Nova-Pak C-18 koloni 300 x 3,9 mm na $23\text{ }^{\circ}\text{C}$, a detekcija je urađena sa UV DAD detektorom na 250 nm.

Zasićenost vode kiseonikom i temperatura vode su mereni svakodnevno u eksperimentalnim tankovima. Azotna jedinjenja i pH su proveravani dva puta nedeljno na uzorku uzetom iz sedimentacionog tanka pre jutarnjeg čišćenja. Kiseonik je održavan iznad 60% zasićenosti vode, dok je temperatura bila $23,6 \pm 0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (opseg $22,2 - 26,7\text{ }^{\circ}\text{C}$). Izmereni

amonijumski azot, nitritni azot, nitratni azot i pH su iznosili $0,14 \pm 0,05 \text{ mg L}^{-1}$; $0,02 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$; $6,58 \pm 2,10 \text{ mg L}^{-1}$, odnosno $8,71 \pm 0,26$, i ocenjeni parametri su bili u prihvatljivom opsegu za uzgoj mlađi smuđa ($0,10 - 0,24 \text{ mg L}^{-1}$; $0,02 - 0,03 \text{ mg L}^{-1}$; $3,39 - 9,39 \text{ mg L}^{-1}$; odnosno $8,33 - 9,00$).

3.3.5. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Podaci su predstavljeni u formi aritmetička sredina \pm SD. Sve promenljive koje predstavljaju verovatnoću su arcsin transformisane pre početka analize. Kolmogorov-Smirnov test je korišćen radi ocene normalnosti raspodele promenljivih, a Levene-ovim testom je ocenjena homogenost varijansi. U prvom ogledu, statistička analiza bazirana je na jednosmernoj analizi varijanse (ANOVA), te je Pirsonovom korelacijom utvrđen stepen i smer zavisnosti između gustine nasada i uspeha navikavanja na suhu hranu. U drugom ogledu, analiza dva dvogrupna poređenja urađena je Studentovim t-testom. U oba poređenja, tretman "Feeder" je upotrebljen kao kontrolni. Statistička analiza urađena je u SPSS 22.0 programu (IBM, Njujork, Njujork, SAD).

3.4. STUDIJA 4. UTICAJ POREKLA RODITELJA SMUĐA NA REZULTATE NAVIKAVANJA NA KONCENTROVANU HRANU I INTENZIVNI UZGOJ POTOMSTVA

3.4.1. EKSTENZIVNI UZGOJ LARVI

Larve korišćene za ovu studiju su dobijene postupkom koji je opisan u studiji 1. Larve starosti 5 DPV poreklom od ukupno četiri ženke iz RAS grupe, odnosno 5 ženki iz divlje grupe, su nasađene u dva odvojena jezera pozicionirana jedno uz drugo. Svako jezero nasađeno je sa po 100.000 larvi iz različite grupe. Dimenzije jezera su identične, čineći jednake površine svakog od jezera ukupno 0,14 ha. Takođe, identične agrotehničke mere su primenjene u svakom od jezera – đubrenje stajskim goveđim đubrivom; punjenje jezera do polovine maksimalnog nivoa 7 dana pre nasađivanja; dopunjavanje jezera do maksimalnog nivoa 2 nedelje nakon nasada larvi i na kraju završni izlov mlađi koji je obavljen istog dana.

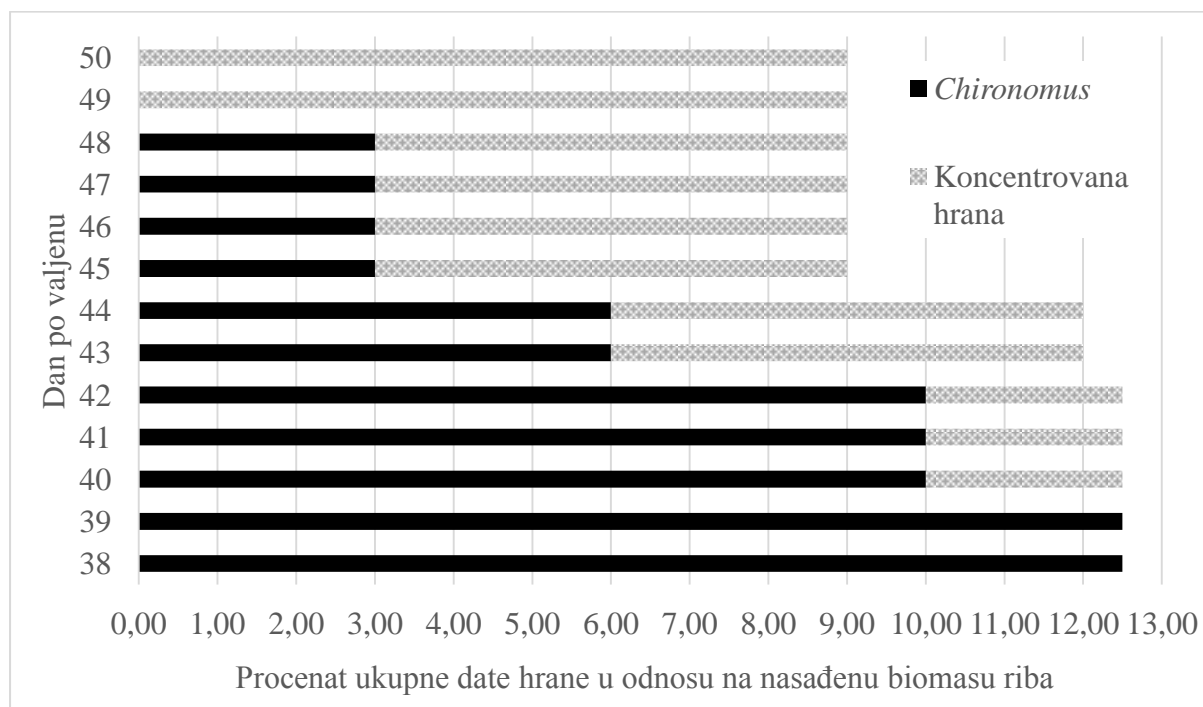
3.4.2. OGLED 1. NAVIKAVANJE JEZERSKI GAJENE MLAĐI NA USLOVE INTENZIVNOG UZGOJA

Ogled je realizovan u dve etape. Tokom prvog perioda u trajanju od dvanaest dana mlađ je navikavana na koncentrovanu hranu, nakon čega je usledio naredni period u trajanju od devet dana gde je mlađ hranjena isključivo koncentrovanom hranom. Mladunci su izlovljeni iz jezera 37 DPV, te prebačeni u unutrašnje postrojenje i nasađeni u RAS sastavljen od deset crnih tankova vodene zapremine 80L, sa biološkim i mehaničkim sistemom za filtraciju vode. Prema potpuno slučajnom planu, pet tankova je nasađeno je jedinkama koje su vodile poreklo od divljih matica – WILD grupa (prosečna nasadna masa $0,345 \pm 0,046$ mg); i pet tankova je nasađeno mladuncima poreklom od intenzivno gajenih matica – CULTURE grupa (prosečna nasadna masa $0,449 \pm 0,083$ mg); čineći tako pet replikacija potomaka dobijenih od različito odgajenih matica. U svaki od tankova nasađeno je po 500 riba. Neposredno pred nasađivanje u RAS, na uzorku od 30 riba iz svake grupe izmerena je individualna masa ($\pm 0,01$ g) i totalna dužina (± 1 mm).

3.4.2.1. Period navikavanja na koncentrovanu hranu

Dan nakon nasađivanja u RAS mlađ je podvrgnuta proceduri navikavanja na formulisanu hranu, koja se sastojala od postepene izmene ponuđene hrane od zamrznutih larvi komaraca *Chironomus* spp. (*Chironomus* nadalje) do koncentrovane hrane Coppens

SteCo Start Premium (Coppens International, Helmond, Netherlands; 54,0% protein, 15,0% mast, 1,0% vlakna, 9,4% pepeo, 1,6% ukupni fosfor), veličine peleta 1,0 mm u ukupnom trajanju od dvanaest dana (38 do 50 DPV). Slika 2.2 prikazuje protokol hranjenja tokom navikavanja.



Slika 2.2. Protokol ishrane tokom navikavanja mlađi smuđa iz jezerskog odgoja na koncentrovanu hranu.

Vlažna hrana (*Chironomus* i mešani *Chironomus* sa koncentrovanom hranom) je davana ručno u četiri jednaka dnevna obroka: 10:00–11:00, 14:00–15:00, 17:00–18:00 i 21:00–22:00 časova. Suva koncentrovana hrana je davana putem mehaničke hranilice (4305 FIAP belt feeder; Aquacultur Fishtechnik, Nemačka), od 49 DPV nadalje, u vremenskom trajanju od 18 časova dnevno.

Sve ribe su izlovljene iz tankova 51 DPV, izbrojane i i razvrstane u tri grupe:

Izgladnele – ribe sa očiglednim znacima izgladnelosti;

Velike – drastično veće ribe u poređenju sa većinom populacije (verovatni kanibali);

Naviknute – ribe bez znakova izgladnelosti u opsegu veličine većine populacije.

Ribe su razvrstavane prema vizuelnim karakteristikama kao što su objasnili Horváth et al. (2013). Na uzorku od trideset naviknutih riba iz svakog tanka merena je individualna masa ($\pm 0,05$ g) i fotografisane su pod fiksiranom kamerom radi merenja dužine.

3.4.2.2. Period nakon navikavanja na koncentrovanu hranu

Nakon razvrstavanja sve naviknute ribe su skupljene zajedno u aerisani plastični kontejner zapremine vode 90 L, te nasadene u po tri tanka za svaku grupu. Naredni devetodnevni period nakon navikavanja na suhu hranu ispitivan je u triplicatu za oba tretmana. Nasadna gustina zavisila je od broja naviknutih riba u prethodnom periodu, pa je u CULTURE grupi iznosila 356 riba po tanku (4 g L^{-1}), dok je u WILD grupi bila 450 riba po tanku (3 g L^{-1}). Tokom ovog perioda, riba je hranjena isključivo formulisanom hranom Coppens SteCo Start Premium, veličine peleta 1,0 i 1,5 mm (Coppens International, Helmond, Holandija). Aplikacija hrane je vršena mehanički pomenutom trakastom hranilicom 18 časova dnevno. Sve ribe su izlovljene iz tankova 60 DPV, izbrojane i na uzorku od 30 riba po tanku izmerena je individualna masa ($\pm 0,05$ g), a zatim su fotografisane fiksiranom kamerom radi merenja totalne dužine. Totalna dužina izmerena je pomoću ImageJ 1.34 programa (Bethesda, Merilend, SAD).

3.4.2.3 Period nakon navikavanja na koncentrovanu hranu

Tankovi su čišćeni dva puta dnevno, između 08:00–09:00 i 20:00–21:00 h. Broj mrtvih individua zabeležen je prilikom svakog čišćenja i označen kao detektovani mortalitet. Ribe su održavane pod konstantnim režimom fotoperioda od 24 L: 0 D i intenzitet svetla izmeren na površini vode svakog tanka se kretao 10-20 lux. Protok vode kroz tankove je podešen na jednu izmenu ukupne zapremine bazena na čas. Zasićenost kiseonikom i temperature su praćeni dnevno, dok su uzorci za analizu osnovnih parametara kvaliteta vode uzimani dva puta nedeljno, sa ispusta jednog, nasumično odabranog, tanka iz obe grupe. Tokom perioda navikavanja prosečna temperatura vode je bila $21,8 \pm 0,9$ °C. Prosečna vrednost zasićenosti vode kiseonikom je iznosila $85,3 \pm 3,5\%$ (minimum 80%) u WILD grupi, dok je u CULTURE grupi iznosila $82,7 \pm 3,6\%$ (minimum 79%). Tokom perioda nakon navikavanja na suhu hranu, srednja temperatura iznosila je $23,6 \pm 0,6$ °C, dok je srednja zasićenost kiseonikom bila $83,0 \pm 1,8\%$ (minimum 81%) u WILD, odnosno $83,7 \pm 1,2\%$ (minimum 83%) u CULTURE grupi. Izmereni parametri kvaliteta vode nisu se statistički značajno razlikovali između grupa i iznosili su:

Amonijačni azot $0,36 \pm 0,25$ i $0,36 \pm 0,24$ mg L⁻¹;

Nitritni azot $0,03 \pm 0,01$ i $0,03 \pm 0,01$ mg L⁻¹,

U CULTURE, odnosno WILD grupi, dok je srednja pH vrednost bila jednaka, $8,2 \pm 0,1$.

3.4.3. OGLED 2 – UZGOJNE PERFORMANSE PROIZVEDENE MLAĐI

3.4.3.1. Postavka ogleda

Tri nedelje nakon završetka ogleda navikavanja na koncentrovanu hranu, ribe su prebačene u šest tankova sive boje, zapremine 275 L, u okviru istog RAS-a. Radi aklimatizacije na nove tankove, ribe su u njima držane dodatnih deset dana pre početka ogleda. Konačno, ogled je postavljen 92 DPV. U svaki tank nasadeno je po 150 riba, tri tanka nasadena su ribom iz CULTURE i tri ribom iz WILD grupe, čineći tako tri replikacije svake grupe. Prilikom formiranja replikacija obe grupe, osnovni princip je bio smanjenje koeficijenta varijacije unutar tanka.

Tri nedelje pre početka eksperimenta ribe su hranjene ručno tri puta dnevno sa ukupno 3-4% inicijalne biomase. Ovaj način aplikacije hrane korišćen je kako bi riba bila naviknuta na ručno hranjenje, te tokom eksperimenta bila hranjena optimalnim režimom za ovu veličinu mlađi objašnjenim od strane Wang et al. (2009a). Tokom eksperimenta, svako hranjenje je obavljano do očiglednog zasićenja, odnosno dok nije uočen prestanak uzimanja peleta. U trenutku kada je primećeno neuzimanje nekoliko uzastopno bačenih peleta, hranjenje je zaustavljano. Nepojedena hrana nije skupljana i merena, te je računata samo relativna stopa konverzije hrane (AFCR – eng. apparent feed conversion rate). Tokom prve dve nedelje ogleda, ribe su hranjene tri puta dnevno: između 10:00 i 11:00, 14:00 i 15:00 te 21:00 i 22:00 h. Tokom ovog perioda primećena je nezainteresovanost ribe za hranu tokom drugog, poslepodnevnog hranjenja. Zbog toga, u toku naredne četiri nedelje, ribe su hranjene svega dva puta dnevno, između 10:00 i 12:00 te između 21:00 i 23:00 h. Hrana korišćena u prve četiri nedelje je bila Coppens SteCo Pre Grower-14 (Coppens International, Helmond, Holandija; 50,0% protein, 14,0% mast, 1,6% vlakna, 7,8% pepeo i 1,0% ukupni fosfor), veličine peleta 2 mm. Tokom pete nedelje hrana je postepeno menjana na SteCo Supreme-10 (Coppens International, Helmond, Holandija; 49,0% protein, 10,0% mast, 0,8% vlakna, 7,9% pepeo i 1,3% ukupni fosfor) veličine peleta 3 mm, koja je davana isključivo tokom šeste

nedelje ogleđa. Promena hrane je izvedena postepeno tokom šest dana, menjajući odnose datih hrana za 25% svaki drugi dan, čineći odnos između dva tipa ponuđene hrane 1:3, 1:1 i 3:1 na svaka dva dana.

3.4.3.2. Uzorkovanje i parametri okoline tokom ogleđa

Individualna masa svih riba merena je na početku i na kraju eksperimenta, dok je individualna totalna dužina izmerena na uzorku od 30 riba po tanku. Nakon dve i četiri nedelje od početka eksperimenta na uzorku od 30 riba po tanku izmerena je individualna masa. Masa je merena sa preciznošću 0,05 g, dok je preciznost prilikom merenja dužine bila 1 mm. Tankovi su čišćeni jednom dnevno, između 08:00 i 09:00 h. Fotoperiod tokom eksperimenta je bio 24 L: 0 D, a intenzitet svetla na površini vode u tankovima 0,8–1,2 lux. Protok vode u tankovima bio je konstantno podešen na 75% izmene vode na čas. Temperatura i sadržaj kiseonika mereni su na ispustu svakog tanka 1 h nakon jutarnjeg obroka, pet dana nedeljno. Uzorci za analizu osnovnih parametara kvaliteta vode uzimani su dva puta nedeljno sa ispusta nasumično izabranog tanka iz svake grupe. Prosečna vrednost temperature vode tokom ogleđa je bila $24,1 \pm 0,8$ °C. Prosečna zasićenost vode kiseonikom na ispustu uzgojnih tankova bila je statistički značajno niža ($p < 0,05$; t-test) u CULTURE grupi ($78,2 \pm 5,3\%$; minimum 68%) u odnosu na WILD grupu ($83,1 \pm 3,4\%$; minimum 75%). Izmereni parametri kvaliteta vode su bili:

- amonijumski azot $0,46 \pm 0,20$ i $0,43 \pm 0,26$ mg L⁻¹;
- nitritni azot $0,06 \pm 0,01$ i $0,06 \pm 0,01$ mg L⁻¹;
- pH vrednost $7,9 \pm 0,1$ i $8,0 \pm 0,1$,

u CULTURE, odnosno WILD grupi. Jedina statistički značajna razlika ($p < 0,05$; t-test) između grupa pronađena je u pH vrednosti.

3.4.4. ANALIZA PODATAKA I STATISTIČKE PROCEDURE

Preživljavanje, kanibalizam i prirast su računati prema sledećim formulama:

$$\text{Izračunat mortalitet (\%)} = 100 N_d \times N_i^{-1}$$

$$\text{Preživljavanje (\%)} = 100 N_h \times N_i^{-1}$$

$$\text{Kanibalizam (\%)} = 100 (N_m \times N_i^{-1})$$

$$\text{Specifična stopa rasta (SGR, \% dan^{-1})} = 100 (\text{Ln}W_f - \text{Ln}W_i) \times \Delta T^{-1}$$

$$\text{Dnevna stopa rasta (DGR, mg dan^{-1})} = (W_f - W_i) \times \Delta T^{-1}$$

Relativna stopa konverzije hrane $AFCR = F_t \times (W_f - W_i)^{-1}$;

Koeficijent varijacije individualne mase unutar tanka $CV_{\text{weight}} = SD_{\text{weight}} \times \bar{W}^{-1}$

Gde su:

N_i , N_d , N_h i N_m predstavljaju broj početno nasadenih, uginulih, prebrojanih, odnosno nestalih riba ($N_m = N_i - N_d - N_f$);

W_i , W_f i – početna, odnosno krajnja telesna masa (mg);

\bar{W} - aritmetička sredina individualnih masa ribe unutar tanka;

ΔT - trajanje eksperimenta (dani);

SD_{weight} – standardna devijacija individualnih masa ribe unutar tanka.

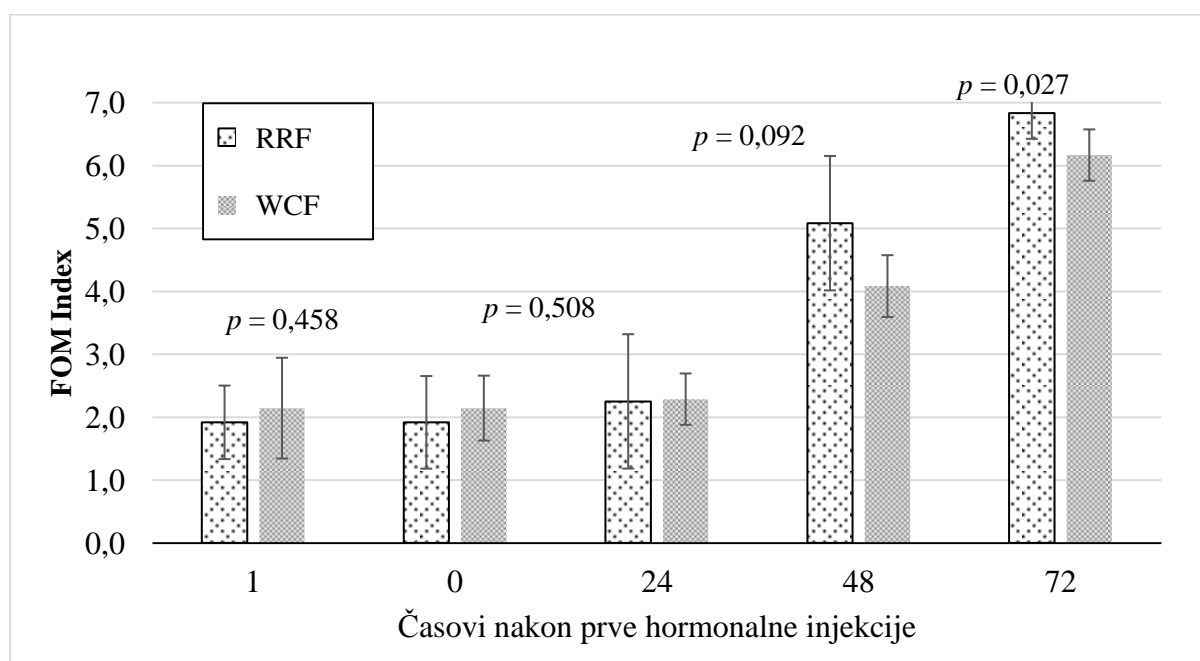
Podaci su predstavljeni u formi aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD). Pre analize, sve procentualne varijable su arcsin transformisane. Raspodela promenljivih je testirana jenouzoračkim Kolmogorov-Smirnov testom. U slučaju normalne distribucije, razlike između promenljivih su analizirane t-testom nezavisnih uzoraka, dok je u slučaju nepoznate raspodele promenljivih korišćen Mann-Whitney U test. Nivo značajnosti je postavljen na $p \leq 0.05$. Statistička analiza podataka obavljena je u SPSS 22.0 programu (IBM, Njujork, Njujork, SAD).

4. REZULTATI

4.1. STUDIJA 1 – EVALUACIJA REPRODUKTIVNIH PERFORMANSI MATICA SMUĐA UZGOJENIH U RAS-U NAKON ZIMOVANJA U SPOLJAŠNJIM JEZERSKIM OBJEKTIMA

4.1.1. USPEH MRESTA I MORTALITET LARVI TOKOM PRVE NEDELJE EGZOGENE ISHRANE

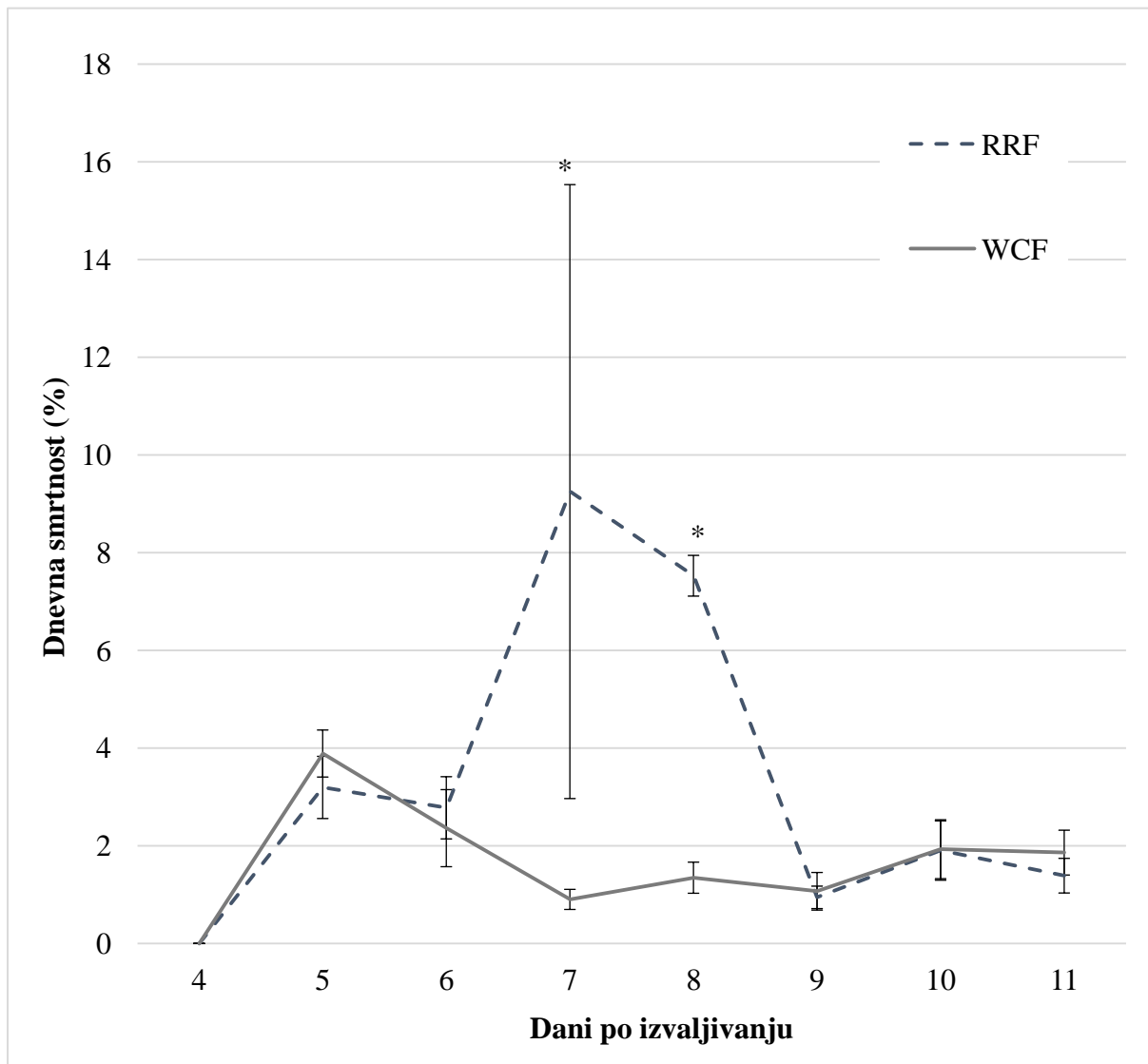
Prva dva dana nakon hormonskog tretmana matica nije postojala statistički značajna razlika u srednjem FOM stadijumu između RRF i WCF riba. Međutim, 72h nakon aplikacije hormona, u RRF grupi zabeležen je značajno viši srednji FOM stadijum. U tom momentu, pet ženki RRF je ovuliralo, dok je u WCF grupi to bio slučaj sa svega jednom ženkom. Dinamika krajnjeg sazrevanja ovocita data je na Slici 4.1.



Slika 4.1. Srednji stadijum konačnog sazrevanja ovocita – FOM index (prema Žarski et al., 2012a) ženki smuđa dve eksperimentalne grupe, ribe uzgojene u RAS-u – RRF i divlje ribe – WCF, nakon hormonalnog tretmana (hCG, 500 IU kg⁻¹). Stupci greške predstavljaju standardnu devijaciju između ženki u grupi.

Vreme latencije bilo je statistički značajno kraće u RRF grupi ($p < 0,05$), dok među ostalim ocenjenim parametrima uspeha mresta nije bilo statistički značajnih razlika. Mortalitet larvi u toku prvih sedam dana egzogene ishrane bio je značajno viši u RRF grupi ($p < 0,05$). Parametri uspeha mresta i kvaliteta larvi su prikazani u Tabeli 4.1.

Monitoring dnevne smrtnosti larvi je pokazao značajno višu smrtnost larvi RRF grupe 7 i 8 DPV, dok u ostalim danima nije bilo statistički značajnih razlika. Dnevna smrtnost larvi prikazana je na slici 4.2.



Slika 4.2. Dnevna smrtnost larvi poreklom od dve različite grupe matica, riba proizvedenih u RAS-u (RRF-isprekidana linija na grafikonu) i divljih riba (WCF-puna linija na grafikonu). Smrtnost je beležena tokom prve nedelje egzogene ishrane (4–11 dana po izvaljivanju). Dani u kojima su uočene statistički značajne razlike između grupa su označeni zvezdicom. Stupci greške predstavljaju standardnu devijaciju (SD).

Tabela 4.1. Parametri uspeha veštačkog mresta matica uzgojenih u RAS-u (RRF) i divljih riba (WCF) obavljenog tokom prirodne sezone mresta i nakon zimovanja u spoljašnjim jezerskim objektima. Podaci su prikazani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD).

| Parametar | RRF (n=6) | WCF (n=6) | <i>P</i> vrednost |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| Masa ženki (kg) | 1,2 \pm 0,2 | 1,1 \pm 0,3 | 0,489 |
| Masa mužjaka (kg) | 1,0 \pm 0,1 | 1,0 \pm 0,1 | 0,426 |
| Početni FOM stadijum | 1,9 \pm 0,7 | 2,1 \pm 0,5 | 0,511 |
| Vreme latencije (h) | 63 \pm 9 | 78 \pm 4 | 0,011 |
| PGSI (%) | 11,4 \pm 1,3 | 9,4 \pm 2,8 | 0,163 |
| 72h preživljavanja embriona (%) | 42,1 \pm 33,8 | 30,5 \pm 26,3 | 0,724 |
| Procenat izvaljivanja (%) | 44,3 \pm 42,9 | 67,8 \pm 34,3 | 0,455 |
| Dužina larvi (mm) | 4,4 \pm 0,1 | 4,4 \pm 0,1 | 0,973 |
| Smrtnost ženki (N) | 2 | 2 | / |
| Smrtnost mužjaka (N) | 0 | 1 | / |
| Smrtnost larvi 4-11 DPV (%) | 27,0 \pm 4,9 | 13,4 \pm 1,7 | 0,008 |

FOM – konačno sazrevanje ovocita; PGSI - pseudo-gonadosomatski indeks; DPV – dani po izvaljivanju

4.1.2. MASNO-KISELINSKI SASTAV SUVIH JAJA

Masno-kiselinski sastav jaja je bio prilično sličan u obe analizirane grupe. U pogledu ukupnih masti, jedina statistički značajna razlika uočena je u stearinskoj kiselini (C18:0), koja je pokazivala više vrednosti u jajima divljih riba (Tabela 4.2). U pogledu frakcija fosfolipida i neutralnih masti, konstantovana je svega po jedna statistički značajna razlika (Tabela 4.3). Jedina statistički značajna razlika u frakciji neutralnih masti nađena je u procentu palmitoleinske kiseline (C16:1n-9). U pogledu fosfolipida, statistički značajna razlika evidentirana je u odnosu EPA/ARA (eikozapentaenoinska kiselina; C20:5n-3/arahidonska kiselina; C20:4n-6). Ovaj odnos bio je u proseku 5 puta veći u RRF grupi. Ova razlika je pre svega uzrokovana razlikom u sastavu arahidonske kiseline, koja je u proseku bila dva puta viša u WCF grupi, te vrlo varijabilna u RRF grupi krećući se od 0,6 do 6,1%. U svim analiziranim grupama, klasa masnih kiselina sa najvećim učešćem su bile polinezasićene masne kiseline (PUFA). Među pojedinačnim masnim kiselinama, DHA (dokozaheksaenoinska kiselina; C22:6n-3) je bila najviše zastupljena u frakciji fosfolipida, te u ukupnim mastima u WCF grupi. Oleinska kiselina je bila najzastupljenija u frakciji neutralnih masti u obe grupe, te u ukupnim mastima RRF grupe.

Tabela 4.2. Masno-kiselinski sastav suvih jaja matica uzgojenih u RAS-u (RRF) i divljih riba (WCF) dobijenih veštačkim mrestom u toku prirodne sezone mresta nakon zimovanja matica u spoljašnjim jezerskim objektima.

| Parametar | RRF (n=5) | WCF (n=5) |
|-----------------------|-------------------|-------------------|
| C16:0 | 5,3± 0,6 | 5,6± 0,4 |
| C18:0 | 1,2 ± 0,2* | 1,5 ± 0,1* |
| Ukupne SFA | 7,4 ± 1,2 | 8,0 ± 0,5 |
| C16:1n-9 | 2,0 ± 0,5 | 1,5 ± 0,2 |
| C16:1n-7 | 5,0 ± 2,4 | 6,5 ± 0,7 |
| C18:1n-9 | 19,5 ± 6,2 | 16,3 ± 0,8 |
| C18:1n-7 | 2,4 ± 0,6 | 2,6 ± 0,1 |
| Ukupne MUFA | 31,8 ± 3,8 | 29,3 ± 0,4 |
| C18:2n-6 (LA) | 16,2 ± 7,0 | 11,9 ± 0,9 |
| C18:3n-6 | 8,2 ± 7,2 | 8,0 ± 3,4 |
| C20:3n-6 | 0,9 ± 0,1 | 1,0 ± 0,1 |
| C20:4n-6 (ARA) | 1,8 ± 1,8 | 3,5 ± 0,4 |
| Ukupne n-6 | 28,2 ± 8,9 | 26,0 ± 3,7 |
| C18:3n-3 (LNA) | 4,1 ± 1,2 | 3,6 ± 0,9 |
| C20:5n-3 (EPA) | 3,0 ± 1,0 | 3,1 ± 0,7 |
| C22:5n-3 | 1,7 ± 0,8 | 2,1 ± 0,4 |
| C22:6n-3 (DHA) | 14,9 ± 2,3 | 17,0 ± 1,7 |
| Ukupne n-3 | 24,5 ± 4,8 | 26,6 ± 1,4 |
| Ukupne HUFA (C20 + 2) | 22,3 ± 5,1 | 26,6 ± 1,6 |
| Ukupne PUFA | 55,5 ± 2,7 | 53,5 ± 3,6 |
| n-3/ n-6 | 1,0 ± 0,5 | 1,0 ± 0,2 |
| DHA/EPA | 5,3 ± 1,2 | 5,8 ± 1,4 |
| EPA/ARA | 3,0 ± 1,8 | 0,9 ± 0,3 |
| LNA/LA | 0,3 ± 0,2 | 0,3 ± 0,1 |

Parametri označeni zvezdicom su značajno različiti među grupama. Masne kiseline sa manje od 1% učešća u masno-kiselinskom sastavu nisu prikazane. Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD).

SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; LA - linoleinska kiselina; ARA – arahidonska kiselina; LNA – α linoleinska kiselina; EPA - eikozapentaenoinska kiselina; DHA - dokozaheksaenoinska kiselina; HUFA – visoko nezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline.

Tabela 4.3. Masno-kiselinski sastav frakcija fosfolipida (PL) i neutralnih masti (NL) suvih jaja riba uzgojenih u RAS-u (RRF) i divljih riba (WCF) koje su dobijene vestačkim mrestom, u toku prirodne sezone mresta, nakon zimovanja matica u spoljašnjim jezerskim objektima.

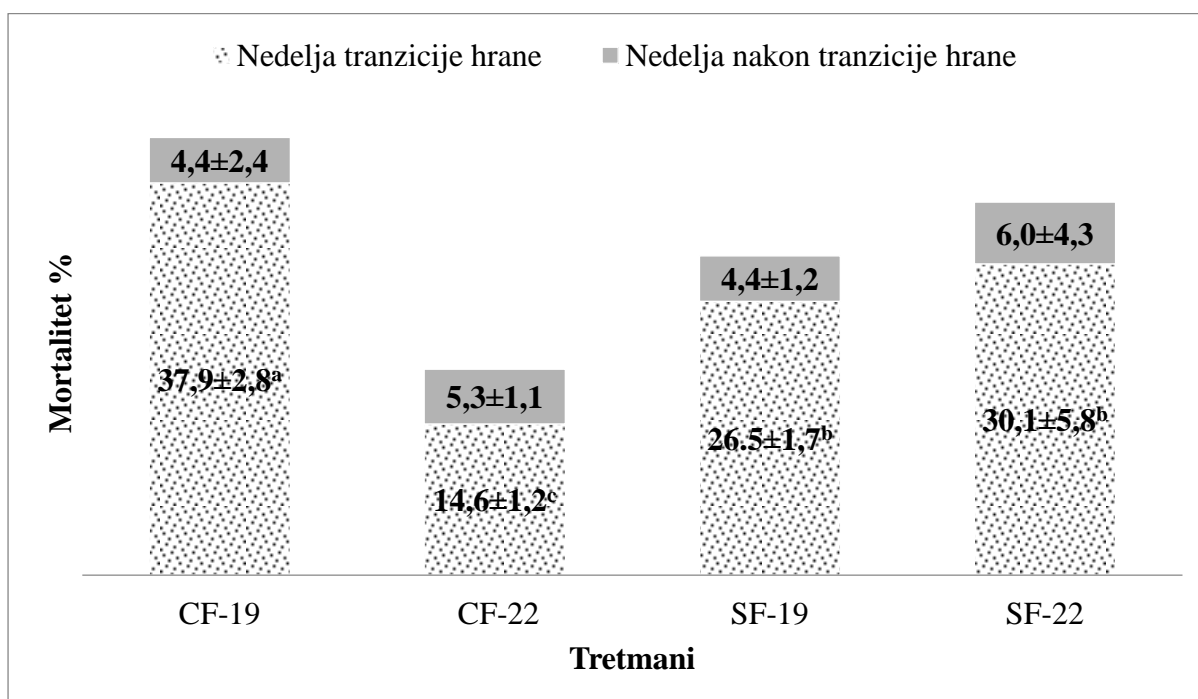
| Masna kiselina | RRF (n = 5) | | WCF (n=5) | |
|-------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| | PL | NL | PL | NL |
| C16:0 | 18,4 ± 1,0 | 2,0 ± 0,4 | 18,4 ± 0,8 | 2,2 ± 0,2 |
| C18:0 | 4,2 ± 0,4 | - | 4,6 ± 0,6 | - |
| SFA | 25,6 ± 1,5 | 3,1 ± 0,8 | 26,0 ± 1,5 | 3,6 ± 0,6 |
| C16:1n-9 | 2,4 ± 0,7 | 1,7 ± 0,3* | 1,8 ± 0,2 | 1,3 ± 0,1 |
| C16:1n-7 | 1,5 ± 0,5 | 5,6 ± 3,0 | 1,9 ± 0,2 | 7,3 ± 0,9 |
| C18:1n-9 | 8,9 ± 3,3 | 20,4 ± 4,7 | 6,6 ± 0,7 | 18,6 ± 0,7 |
| C18:1n-7 | 2,7 ± 0,3 | 2,2 ± 0,8 | 2,4 ± 0,1 | 2,5 ± 0,1 |
| Ukupne MUFA | 18,6 ± 3,5 | 32,7 ± 1,9 | 15,7 ± 1,0 | 32,2 ± 0,6 |
| C18:2n-6 (LA) | 5,0 ± 2,6 | 17,3 ± 6,2 | 3,2 ± 0,4 | 13,9 ± 1,0 |
| C18:3n-6 | - | 15,1 ± 5,9 | - | 11,3 ± 0,8 |
| C20:4n-6 (ARA) | 2,8 ± 2,8 | 1,1 ± 1,2 | 5,6 ± 0,7 | 2,0 ± 0,3 |
| Ukupne n-6 | 10,1 ± 1,7 | 35,3 ± 10,2 | 11,8 ± 1,1 | 29,9 ± 1,8 |
| C18:3n-3 (LNA) | 1,2 ± 0,2 | 4,5 ± 1,6 | 1,0 ± 0,2 | 4,2 ± 1,1 |
| C20:5n-3 (EPA) | 5,7 ± 0,9 | 2,0 ± 1,1 | 5,0 ± 1,0 | 2,4 ± 0,4 |
| C22:5n-3 | 2,3 ± 1,0 | 1,4 ± 0,7 | 2,3 ± 0,9 | 1,9 ± 0,2 |
| C22:6n-3 (DHA) | 31,7 ± 1,6 | 9,5 ± 1,5 | 31,9 ± 1,4 | 12,0 ± 2,2 |
| Ukupne n-3 | 41,8 ± 1,2 | 18,3 ± 5,2 | 41,0 ± 1,5 | 21,4 ± 1,6 |
| Ukupne HUFA (C20 + 2) | 43,4 ± 3,6 | 15,2 ± 4,5 | 46,0 ± 1,7 | 20,2 ± 2,3 |
| Ukupne PUFA | 52,2 ± 1,6 | 55,8 ± 4,7 | 53,2 ± 1,6 | 53,2 ± 0,7 |
| n-3/ n-6 | 4,3 ± 0,9 | 0,6 ± 0,4 | 3,5 ± 0,4 | 0,7 ± 0,1 |
| DHA/EPA | 5,6 ± 0,9 | 5,5 ± 1,8 | 6,6 ± 1,2 | 5,1 ± 1,4 |
| EPA/ARA | 5,1 ± 3,8* | 3,6 ± 2,1 | 0,9 ± 0,3* | 1,2 ± 0,3 |
| LNA/LA | 0,3 ± 0,2 | 0,3 ± 0,1 | 0,3 ± 0,1 | 0,3 ± 0,2 |
| Udeo od ukupnih masnih kiselina (%) | 21,4 ± 3,5 | 78,6 ± 3,5 | 24,2 ± 2,2 | 75,8 ± 2,2 |

Parametri označeni zvezdicom su značajno različiti među grupama. Masne kiseline sa manje od 1% učešća u masno-kiselinskom sastavu nisu prikazane. Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD). SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; LA - linoleinska kiselina; ARA – arahidonska kiselina; LNA – α linoleinska kiselina; EPA - eikozapentaenoinska kiselina; DHA - dokozaheksaenoinska kiselina; HUFA – visoko nezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline.

4.2. STUDIJA 2 – UTICAJ PROTOKOLA ISHRANE LARVI SMUĐA TOKOM PRELASKA SA ŽIVE NA KONCENTROVANU HRANU NA RAST I PREŽIVLJAVANJE

U jednoj replikaciji SF-19 tretmana došlo je do ekstremne stope kanibalizma, pa je svega 6 riba (1.8%) preživelo. Iz tog razloga, ova replikacija je isključena iz dalje statističke analize. Srednje preživljavanje po tretmanima kretalo se od $43,8 \pm 2,9$ % u SF-19 grupi do $21,6 \pm 5,9$ % u SF-22 grupi (Tabela 4.4).

Najviši zabeležen mortalitet larvi smuđa nađen je u grupi CF-19 ($42,4 \pm 3,4$ %) i SF-22 tretmanu ($36,1 \pm 7,7$ %), dok je najniži zabeležen mortalitet ($19,9 \pm 1,2$ %) bio u CF-22 tretmanu. U svim grupama mortalitet je bio značajno viši tokom nedelje tranzicije hrane u odnosu na narednu nedelju. Tokom perioda tranzicije hrane značajno viši mortalitet u odnosu na ostale grupe je nađen u CF-19 grupi ($37,9 \pm 2,8$ %), dok je značajno niži mortalitet u odnosu na ostale grupe nađen u CF-22 grupi ($14,6 \pm 1,2$ %).



Slika 4.3. Mortalitet u grupama tokom nedelje tranzicije hrane i u nedelji nakon tranzicije hrane.

Serijske grupe sa različitim natpisom (a, b, c) su značajno različite ($P \leq 0,05$)

* - dve replikacije u tretmanu

CF-19: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;
CF-22: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;
SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 19 DPV;
SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 22 DPV.

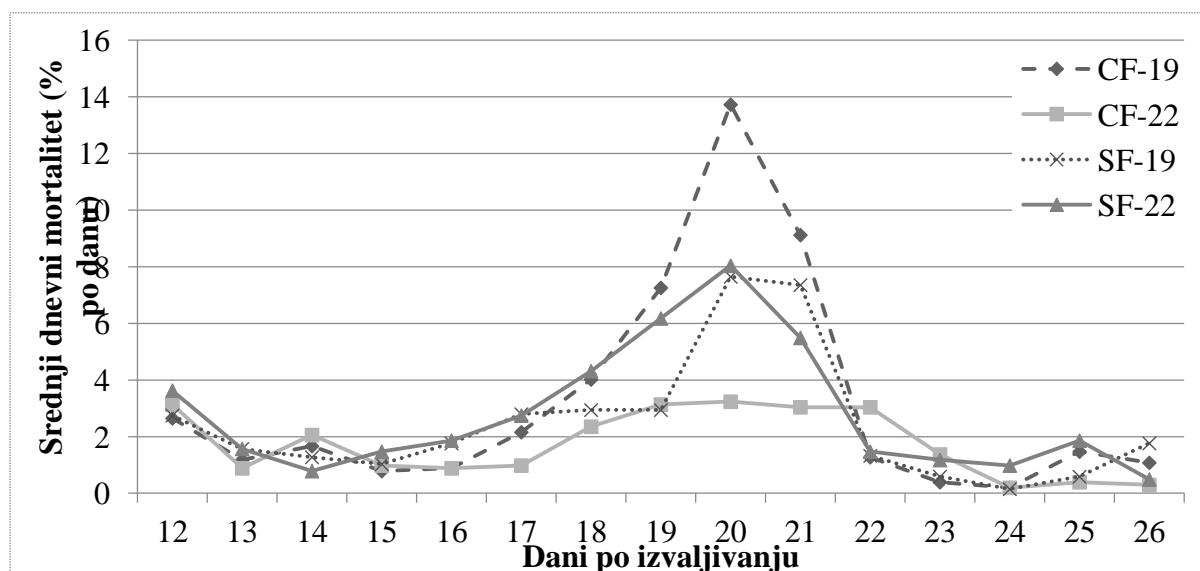
Tabela 4.4. Uticaj različitih načina ishrane larvi smuđa tokom prelaska sa žive na koncentrovanu hranu na mortalitet, preživljavanje i kanibalizam

| Parametri | CF-19 | CF-22 | SF-19 ^(*) | SF-22 |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Zabeležen mortalitet (%) | 42,4 ± 3,4 ^a | 19,9 ± 1,2 ^c | 30,9 ± 2,5 ^(b) | 36,1 ± 7,7 ^{ab} |
| Preživljavanje (%) | 31,9 ± 5,8 ^{ab} | 35,1 ± 6,4 ^a | 43,8 ± 2,9 ^(a) | 21,6 ± 5,9 ^c |
| Kanibalizam (%) | 25,8 ± 9,1 ^b | 45,0 ± 5,2 ^a | 25,3 ± 5,4 ^(b) | 42,4 ± 6,8 ^a |

Vrednosti (aritmetička sredina ± SD) u istom redu sa različitim natpisom (a,b,c) su značajno različite ($p \leq 0.05$).
^(*) – dve replikacije u tretmanu.

CF-19: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;
 CF-22: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;
 SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 19 DPV;
 SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 22 DPV.

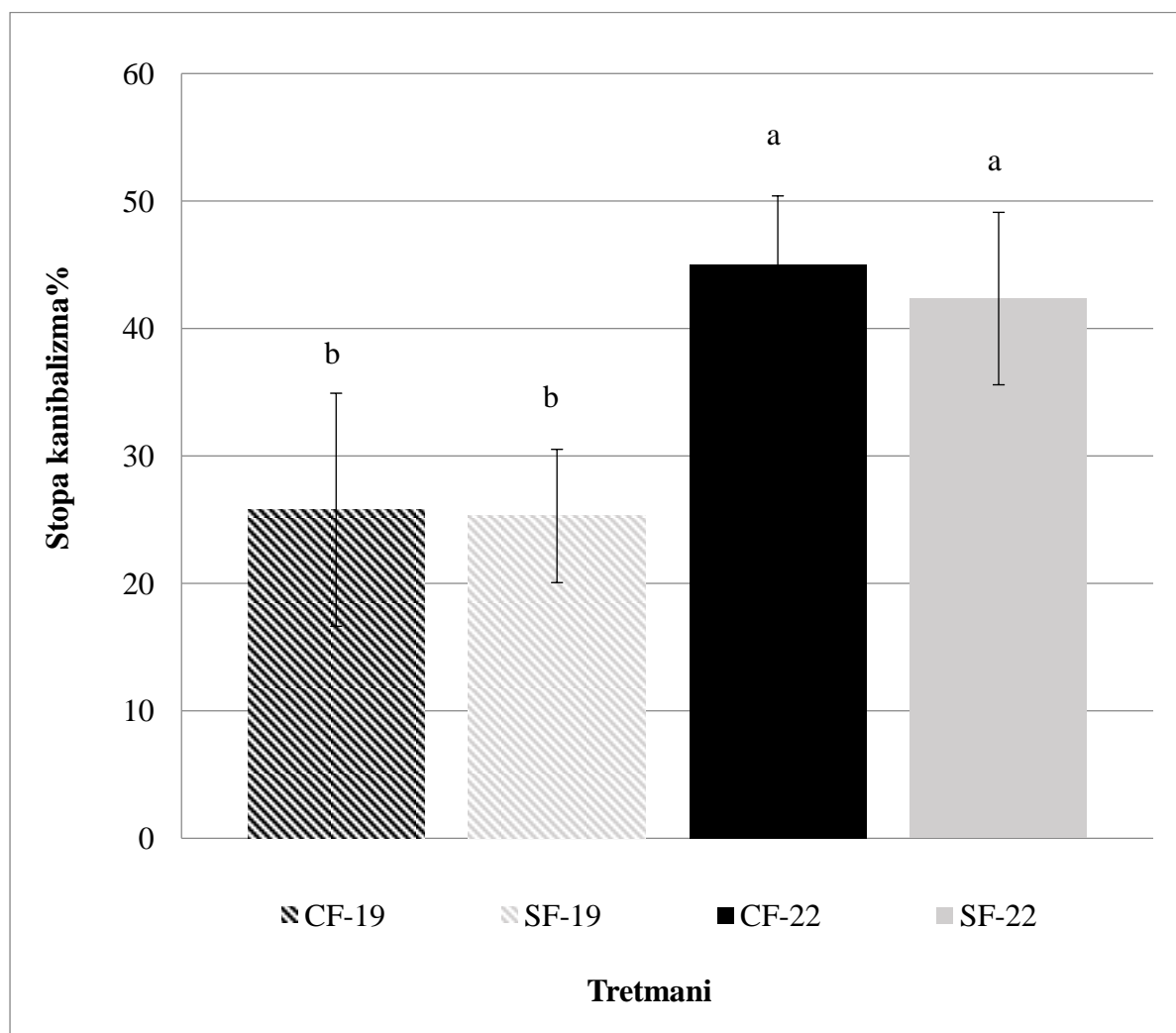
Očigledan skok dnevnog mortaliteta larvi se desio između 18 i 22 DPV. Najveći dnevni mortalitet zabeležen je 20 DPV, kada je statistički viši mortalitet u odnosu na ostale grupe zabeležen u tretmanu CF-19, dok je značajno niži mortalitet u odnosu na ostale tretmane zabeležen u CF-22 grupi. Između SF tretmana nije bilo značajnih razlika i u oba je mortalitet bio značajno niži u odnosu na CF-19, odnosno značajno viši u odnosu CF-22. Pre i posle spomenutog perioda prosečni dnevni mortalitet po tretmanima se kretao od 0 do 4 %. Dnevni mortalitet tokom eksperimenta prikazan je na Slici 4.4.



Slika 4.4. Dnevni mortalitet larvi smuđa tokom eksperimenta.

CF-19: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;
 CF-22: Prihrana naupijima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;
 SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 19 DPV;
 SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 22 DPV.

Značajno niži stepen kanibalizma zabeležen je u oba protokola ishrane kraće izloženim naupliima Artemije ($25,8 \pm 9,1$ % u CF-4, odnosno $25,3 \pm 5,4$ % u SF-4 grupi), u odnosu na oba protokola gde je prelazak sa žive na suhu hranu duže trajao ($45,0 \pm 5,2$ % u CF-7, odnosno $42,4 \pm 6,8$ % u SF-7).



Slika 4.5. Stepen kanibalizma larvi smuđa (aritmetička sredina \pm SD) u različitim protokolima ishrane tokom prelaska sa žive na koncentrovanu hranu

Serijski tretmani (prosečna vrednosti \pm SD) sa različitim natpisom (a, b) su značajno različite ($P \leq 0,05$)

* - dve replikacije u grupi

CF-19: Prihrana naupliima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;
 CF-22: Prihrana naupliima artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;
 SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 19 DPV;
 SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 22 DPV.

Najveća konačna individualna masa je zabeležena u tretmanu CF-22, $84,3 \pm 7,3$ mg, značajno viša u odnosu na ostale tretmane. Takođe, najviši prirast zabeležen je u istom tretmanu ($22,2 \pm 0,6$ % dan⁻¹), međutim bez značajne razlike u odnosu na drugi protokol istog trajanja, SF-22 ($19,2 \pm 1,6$ % dan⁻¹), ali značajno viši od oba protokola ishrane pri prelasku sa žive na suhu hranu u trajanju od četiri dana. Takođe, najveći prinos, i značajno viši u odnosu na sve ostale grupe (u proseku duplo viši) je zabeležen u tretmanu CF-22 ($0,50 \pm 0,09$ g L⁻¹). Parametri rasta prikazani su u Tabeli 4.5.

Table 4.5. Uticaj različitih protokola ishrane larvi smuđa na parametre rasta tokom prelaska sa žive na suhu hranu

| Parametri | CF-19 | CF-22 | SF-19 ^(*) | SF-22 |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| BW _I (mg) | $2,4 \pm 0,2$ | $2,4 \pm 0,2$ | $2,4 \pm 0,2$ | $2,4 \pm 0,2$ |
| BW _F (mg) | $47,7 \pm 7,0^{bc}$ | $84,3 \pm 7,3^a$ | $30,5 \pm 3,4^{(c)}$ | $52,7 \pm 12,1^b$ |
| SGR (% dan ⁻¹) | $18,6 \pm 0,9^b$ | $22,2 \pm 0,6^a$ | $15,9 \pm 0,7^{(c)}$ | $19,2 \pm 1,6^{ab}$ |
| DGR (mg dan ⁻¹) | $2,8 \pm 0,4^b$ | $5,1 \pm 0,5^a$ | $1,8 \pm 0,2^{(c)}$ | $3,1 \pm 0,8^b$ |
| Konačna dužina (mm) | $17,6 \pm 1,1^{bc}$ | $21,4 \pm 0,4^a$ | $15,8 \pm 0,5^{(c)}$ | $17,8 \pm 1,2^b$ |
| CV _{TL} (%) | $17,1 \pm 1,0^{ab}$ | $16,2 \pm 0,7^{ab}$ | $15,3 \pm 1,3^{(b)}$ | $19,9 \pm 3,2^a$ |
| CV _{BW} (%) | $83,9 \pm 16,0$ | $83,6 \pm 14,4$ | $92,9 \pm 19,0$ | $116,3 \pm 25,4$ |
| Y (g L ⁻¹) | $0,25 \pm 0,02^b$ | $0,50 \pm 0,09^a$ | $0,23 \pm 0,01^{(b)}$ | $0,19 \pm 0,04^b$ |

BW_I: Početna telesna masa; BW_F: Konačna telesna masa; SGR: specifična stopa rasta; DGR: dnevna stopa rasta; CV_{TL}: koeficijent varijacije ukupne dužine; CV_{BW}: koeficijent varijacije telesne mase; Y: konačan prinos. Vrednosti (aritmetička sredina \pm SD) u istom redu sa različitim natpisom (a, b, c) su značajno različite ($P \leq 0,05$).

(*) – dve replikacije u tretmanu.

CF-19: Prihrana nauplija artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 25 % dnevno od 15 do 19 DPV;
 CF-22: Prihrana nauplija artemije i suvom hranom uz smanjenje datih nauplija 14 % dnevno od 15 do 22 DPV;
 SF-19: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 19 DPV;
 SF-22: Dohrana artemijom kao poslednjim dnevnim obrokom od 15 do 22 DPV.

4.3. STUDIJA 3 – UTICAJ GUSTINE NASADA, TEHNIKE HRANJENJA I OBOGAĆIVANJA VITAMINOM C NA NAVIKAVANJE NA KONCENTROVANU HRANU JEZERSKI GAJENIH MLADUNACA SMUĐA

4.3.1. OGLED 1 – EFEKAT GUSTINE NASADA

Prema rezultatima jednosmjerne analize varijanse, nije bilo statistički značajnih razlika među različitim gustinama nasada u svim analiziranim parametrima. Specifična stopa rasta bila je konstantna među grupama na 3,6 % dan⁻¹. Srednji uspeh navikavanja kretao se od 12,7 do 17,8 %, bivajući za oko 2,5 % viši pri svakom gušćem nasadu. U tom smislu, Pirsonov koeficijent korelacije pokazao je snažnu pozitivnu zavisnost između gustine nasada i uspeha navikavanja na koncentrovanu hranu ($r^2 = 0,829$, $p = 0,006$). Uticaj gustine nasada na uspeh navikavanja na koncentrovanu hranu prikazan je u Tabeli 4.6.

Tabela 4.6. Uticaj različitih gustina nasada na uspeh navikavanja jezerski gajene mladi smuđa na koncentrovanu hranu

| Parametri | Redak | Umeren | Gust |
|--|------------|------------|------------|
| Preživljavanje (%) | 26,9 ± 4,3 | 31,0 ± 4,3 | 29,9 ± 2,2 |
| Uspeh navikavanja (%) | 12,7 ± 2,4 | 15,2 ± 3,9 | 17,8 ± 4,8 |
| Mortalitet (%) | 42,4 ± 0,1 | 44,8 ± 0,1 | 40,2 ± 0,1 |
| Krajnja masa naviknute ribe (g) | 3,2 ± 0,4 | 3,1 ± 0,2 | 3,1 ± 0,2 |
| Krajnja totalna dužina naviknute ribe (mm) | 76,3 ± 4,7 | 74,5 ± 2,8 | 73,2 ± 0,9 |
| CV konačna masa (%) | 31,3 ± 8,3 | 31,3 ± 1,7 | 31,1 ± 3,1 |
| SGR (% dan ⁻¹) | 3,6 ± 0,4 | 3,6 ± 0,2 | 3,6 ± 0,2 |
| Masa izglednelih riba (g) | 0,96 ± 0,0 | 0,89 ± 0,1 | 0,92 ± 0,1 |
| Kanibalizam (%) | 30,7 ± 2,4 | 24,2 ± 2,9 | 29,9 ± 9,2 |

Prosečna nasadna telesna masa: 1,1±0,3g. Prosečna nasadna totalna dužina tela: 51,6 ± 10,7mm.

Redak – početna gustina nasada 0,5 riba L⁻¹; **Umeren** – početna gustina nasada 1 riba L⁻¹; **Gust** – početna gustina nasada 1,5 riba L⁻¹.

SGR: specifična stopa rasta; CV_{masa}: koeficijent varijacije mase naviknutih riba unutar tanka (replikacije).

4.3.1. OGLED 2 – EFEKAT TEHNIKE HRANJENJA I OBOGAĆIVANJA ŽIVE HRANE VITAMINOM C

Na osnovu dobijenih rezultata ishrane larvi smuđa, nisu uočene značajne razlike između tretmana suplementacije vitaminom C u odnosu na kontrolnu grupu. Kod konačne mase uočena je najveća razlika među tretmanima, koja je iznosila $3,5 \pm 0,3$ g u VitC, odnosno $3,2 \pm 0,1$ g u Feeder grupi ($p = 0,060$). Sadržaj l-askorbinske kiseline je bio značajno viši u obogaćenoj *Daphnia* u odnosu na kontrolu, međutim u tkivu riba nisu nađene značajne razlike. Uticaj obogaćivanja žive hrane vitaminom C na uspeh navikavanja mlađi smuđa na koncentrovanu hranu prikazan je u Tabeli 4.7.

Tabela 4.7. Uticaj obogaćivanja žive *Daphnia* spp. vitaminom C na uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na koncentrovanu hranu

| Parametri | VitC | Feeder | <i>p</i> - vrednost |
|---|------------|------------|---------------------|
| Preživljavanje (%) | 35,7±2,5 | 32,6±1,5 | 0,135 |
| Mortalitet (%) | 22,6 ± 7,2 | 27,4 ± 3,5 | 0,930 |
| Uspeh navikavanja (%) | 16,2±3,3 | 11,4±0,7 | 0,107 |
| Krajnja masa (g) | 3,5±0,3 | 3,2±0,1 | 0,060 |
| Krajnja totalna dužina (mm) | 76,4±0,6 | 75,2±9,1 | 0,240 |
| SGR (% dan ⁻¹) | 3,9 ± 0,3 | 3,6 ± 0,1 | 0,118 |
| Kanibalizam (%) | 40,0±3,6 | 31,7±7,2 | 0,148 |
| CV konačna masa (%) | 31,5±1,5 | 32,5±8,5 | 0,890 |
| Sadržaj l-askorbinske kiseline <i>Daphnia</i> (µg g ⁻¹) | 7,2 ± 1,0 | 0,6±0,2* | 0,000 |
| Sadržaj l-askorbinske kiseline riba (µg g ⁻¹) | 8,0±2,1 | 5,4 ± 2,0 | 0,191 |

Prosečna nasadna telesna masa: $1,1 \pm 0,3$ g. Prosečna nasadna dužina tela: $51,6 \pm 10,7$ mm.

Feeder: ribe su hranjene neobogaćenom *Daphnia* spp;

VitC: ribe su hranjene *Daphnia* spp. koja je obogaćena vitaminom C;

SGR: specifična stopa rasta; CV_{mase}: koeficijent varijacije mase naviknutih riba unutar tanka (replikacije).

Pri poređenju rezultata tehnika hranjenja tokom navikavanja na suhu hranu, nisu uočene značajne razlike u ocenjenim parametrima između aplikacije suve hrane mehanički, odnosno ručno. Parametar gde je uočena najveća razlika je bila specifična stopa rasta, bivajući niža u Hand tretmanu $3,4 \pm 0,1$ % dan⁻¹ u odnosu na Feeder $3,6 \pm 0,1$ % dan⁻¹ ($p = 0,056$). Uticaj tehnika hranjenja na uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na koncentrovanu hranu prikazan je u Tabeli 4.8.

Tabela 4.8. Uticaj tehnike hranjenja (ručno, odnosno mehanički) na uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na suhu hranu.

| Parametri | Hand | Feeder | P - vrednost |
|-------------------------------------|-------------|---------------|---------------------|
| Preživljavanje (%) | 39,0±13,5 | 32,6±1,5 | 0,483 |
| Mortalitet (%) | 29,3 ± 18,5 | 27,4 ± 3,5 | 0,933 |
| Uspeh navikavanja (%) | 11,2±3,9 | 11,4±0,7 | 0,860 |
| Konačna masa naviknutih riba (g) | 3,0±0,0 | 3,2±0,1 | 0,060 |
| Konačna dužina naviknutih riba (mm) | 73,4±2,1 | 75,2±9,1 | 0,240 |
| SGR (% dan ⁻¹) | 3,4 ± 0,1 | 3,6 ± 0,1 | 0,056 |
| Kanibalizam (%) | 41,7±4,8 | 31,7±7,2 | 0,148 |
| CV _{mase} (%) | 29,0±14,2 | 32,5±8,5 | 0,701 |

Početna telesna masa: 1,1 ± 0,3 g. Početna dužina: 51,6 ± 10,7 mm

Feeder – koncentrovana hrana je dodavana mehaničkom trakastom hranilicom; Hand – koncentrovana hrana je aplicirana ručno.

SGR: specifična stopa rasta; CV_{mase}: koeficijent varijacije mase naviknutih riba unutar tanka (replikacije).

4.4. STUDIJA 4. UTICAJ POREKLA RODITELJA SMUĐA NA REZULTATE POTOMSTVA PRILIKOM NAVIKAVANJA NA KONCENTROVANU HRANU I INTENZIVNI UZGOJ

4.4.1. OGLED 1. NAVIKAVANJE JEZERSKI GAJENE MLADI NA USLOVE INTENZIVNOG UZGOJA

Na kraju ekstenzivnog jezerskog odgoja znaci kanibalizma primećeni su među juvenilima grupe CULTURE. U ovoj grupi bilo je značajno većih jedinki u odnosu na većinu populacije. Nakon izlova, značajno veće jedinke su odstranjene iz grupe. U tom smislu, početna masa, dužina i koeficijent varijacije riba CULTURE grupe bili su viši ($0,449 \pm 0,083$ g; $38,1 \pm 2,7$ mm; odnosno 18,5 %) u odnosu na WILD ribe ($0,345 \pm 0,046$ g; $35,0 \pm 2,0$ mm; odnosno 13,2 %). Tokom perioda navikavanja na koncentrovanu hranu, WILD grupa je ispoljila značajno više preživljavanje i uspeh navikavanja, dok su CULTURE ribe ispoljile značajno višu stopu rasta, ali u isto vreme i značajno viši kanibalizam. Nasuprot tome, u periodu nakon navikavanja na suhu hranu, značajno više preživljavanje zabeleženo je u CULTURE grupi, dok su kanibalizam i prirast bili značajno viši kod riba iz grupe WILD. Uticaj porekla na uspeh navikavanja jezerski gajenih juvenila na uslove intenzivnog uzgoja prikazani su u Tabeli 4.9.

4.4.2. OGLED 2 – UZGOJNE PERFORMANSE PROIZVEDENE MLADI

Tokom oglada uzgoja proizvedene mlađi naviknute na uslove RAS-a, CULTURE ribe su prikazale značajno bolje parametre rasta u odnosu na jedinke iz WILD grupe. Značajne razlike su uočene u krajnjoj masi, specifičnoj stopi rasta, dnevnoj stopi rasta i relativnoj konverziji, sve u korist mlađi smuđa iz CULTURE grupe. Uzgojne karakteristike mlađi smuđa različitog roditeljskog porekla nakon šest nedelja intenzivnog uzgoja u RAS-u prikazane su u Tabeli 4.10.

Prirast CULTURE riba je bio konstantno viši, te su prve značajne razlike u specifičnoj stopi rasta primećene nakon četiri nedelje oglada, 120 DPV ($3,7 \pm 0,0$ i $3,3 \pm 0,1\%$ dan⁻¹ u CULTURE, odnosno WILD grupi). Specifična stopa rasta nakon svake dve nedelje oglada prikazana je na Slici 4.6. Nije bilo značajnih razlika između grupa u količini ponuđene hrane. Dnevna količina ponuđene hrane je prikazana kao relativna vrednost u odnosu na prosečnu masu jedinki zabeleženu na prethodnom merenju i kretala se od 5,5 do 1,5%. U toku prve dve nedelje, više hrane je ponuđeno WILD ribama $4,9 \pm 0,6\%$ u odnosu na CULTURE $4,7 \pm 0,2\%$, dok je u sledećem dvonedeljnom periodu količina ponuđene hrane bila približno jednaka

($3,4 \pm 0,2$ % i $3,4 \pm 0,3$ % u CULTURE odnosno WILD grupi). Međutim, u poslednje dve nedelje ogleada, niža i varijabilnija zainteresovanost hrane primećena je kod replikacija WILD grupe ($2,1 \pm 0,4$ %) u odnosu na CULTURE ($2,5 \pm 0,1$ %), ipak, bez statistički značajnih razlika ($p = 0,275$).

Tabela 4.9. Performanse jezerski gajenih juvenila smuđa različitog roditeljskog porekla pri navikavanju na uslove intenzivnog odgoja (38–59 dana po izvaljivanju).

| Parametri | WILD ^a | CULTURE ^b | <i>p</i> - vrednost |
|--|-------------------|----------------------|---------------------|
| Period navikavanja na koncentrovanu hranu (38–50 dana po izvaljivanju) | | | |
| Nasadna telesna masa | $0,345 \pm 0,046$ | $0,449 \pm 0,083$ | / |
| CV _{nasadna masa} (%) | 13,2 | 18,5 | / |
| Nasadna totalna dužina (mm) | $35,0 \pm 2,0$ | $38,1 \pm 2,7$ | / |
| Preživljavanje (%) | $76,8 \pm 4,5$ | $67,3 \pm 6,4$ | 0,005 |
| Zabeležen mortalitet (%) | $3,8 \pm 1,9$ | $2,2 \pm 0,7$ | 0,130 |
| Kanibalizam (%) | $19,4 \pm 5,3$ | $30,4 \pm 3,5$ | 0,005 |
| Uspeh navikavanja (%) | $54,1 \pm 2,6$ | $42,8 \pm 2,8$ | <0,001 |
| Krajnja telesna masa (g) | $0,48 \pm 0,04$ | $0,90 \pm 0,05$ | <0,001 |
| Krajnja totalna dužina (mm) | $40,3 \pm 0,8$ | $47,3 \pm 1,7$ | <0,001 |
| CV _{krajnja masa} (%) | $29,7 \pm 3,6$ | $23,3 \pm 3,8$ | 0,027 |
| SGR (% dan ⁻¹) | $2,7 \pm 0,6$ | $5,7 \pm 0,5$ | <0,001 |
| Period nakon navikavanja na suhu hranu (51–59 dana po izvaljivanju) | | | |
| Preživljavanje (%) | $62,5 \pm 2,7$ | $86,1 \pm 0,9$ | <0,001 |
| Zabeležen mortalitet (%) | $9,2 \pm 4,8$ | $3,9 \pm 2,1$ | 0,162 |
| Kanibalizam (%) | $21,3 \pm 6,6$ | $9,9 \pm 2,6$ | 0,013 |
| Krajnja telesna masa (g) | $1,14 \pm 0,06$ | $1,31 \pm 0,12$ | 0,095 |
| Krajnja totalna dužina (mm) | $51,3 \pm 1,7$ | $55,6 \pm 1,5$ | 0,032 |
| CV _{krajnja masa} (%) | $39,3 \pm 2,3$ | $29,9 \pm 1,5$ | 0,004 |
| SGR (% dan ⁻¹) | $9,6 \pm 0,6$ | $4,2 \pm 1,0$ | 0,001 |

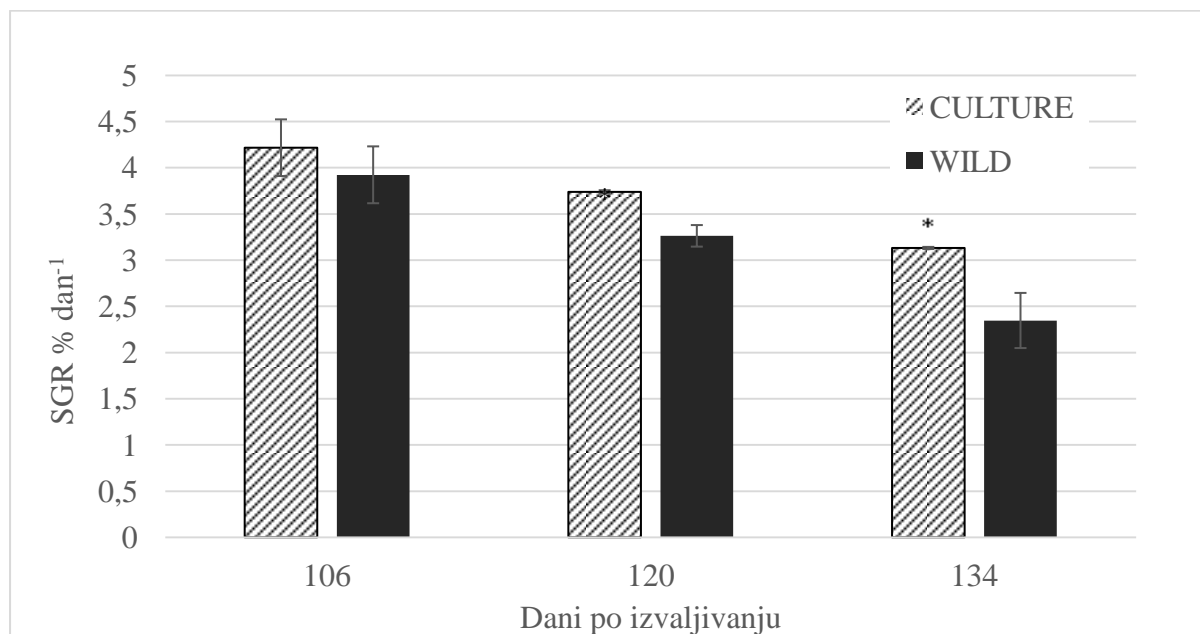
^aWILD – mlađ poreklom od divljih matica; ^bCULTURE – mlađ poreklom od intenzivno gajenih matica; CV_{mase} - koeficijent varijacije mase naviknutih riba unutar tanka (replikacije).; SGR – specifična stopa rasta; početna masa, dužina i CV_{mase} su izračunate na uzorku od 30 riba iz svake grupe; Period navikavanja na suhu hranu: broj replikacija n = 5, broj riba po replikaciji n = 500; Period nakon navikavanja na suhu hranu: broj replikacija n = 3, broj riba po replikaciji - CULTURE n = 356, WILD n = 450.

Tabela 4.10. Uzgojne karakteristike mlađi smuđa različitog roditeljskog porekla nakon 6 nedelja intenzivnog uzgoja (92–134 dana po izvaljivanju).

| Parametri | WILD ^a | CULTURE ^b | <i>p</i> - vrednost |
|--------------------------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| Početna telesna masa (g) | 5,6 ± 0,0 | 7,0 ± 0,0 | <0,001 |
| Početni CV _{mase} (%) | 13,0 ± 0,3 | 12,9 ± 0,4 | 0,605 |
| Početna totalna dužina (cm) | 8,7 ± 0,4 | 9,8 ± 0,5 | 0,039 |
| Krajnja telesna masa (g) | 15,0 ± 1,8 | 26,0 ± 0,2 | <0,001 |
| Krajnja CV _{mase} (%) | 37,0 ± 4,6 | 31,8 ± 1,3 | 0,135 |
| Krajnja totalna dužina | 12,6 ± 0,2 | 14,5 ± 0,3 | 0,001 |
| SGR (% dan ⁻¹) | 2,3 ± 0,3 | 3,1 ± 0,0 | 0,001 |
| DGR (g dan ⁻¹) | 0,22 ± 0,04 | 0,45 ± 0,00 | 0,001 |
| AFCR (g g ⁻¹) | 1,4 ± 0,1 | 1,0 ± 0,0 | 0,01 |
| Preživljavanje (%) | 99,1 ± 0,8 | 98,4 ± 0,8 | 0,362 |

^aWILD – mlađ poreklom od divljih matice; ^bCULTURE – mlađ poreklom od matice proizvedenih u RAS-u; CV_{mase} – koeficijent varijacije mase riba unutar tanka (replikacije); SGR – specifična stopa rasta; DGR – dnevna stopa rasta; AFCR – relativna stopa konverzije hrane; broj replikacija n = 3; broj riba po replikaciji n = 150.

Slika 4.6. Specifična stopa rasta mlađi smuđa različitog roditeljskog porekla nakon svake dve nedelje oglada tokom šest nedelja intenzivnog odgoja u RAS-u (92–134 dana po valjenju)

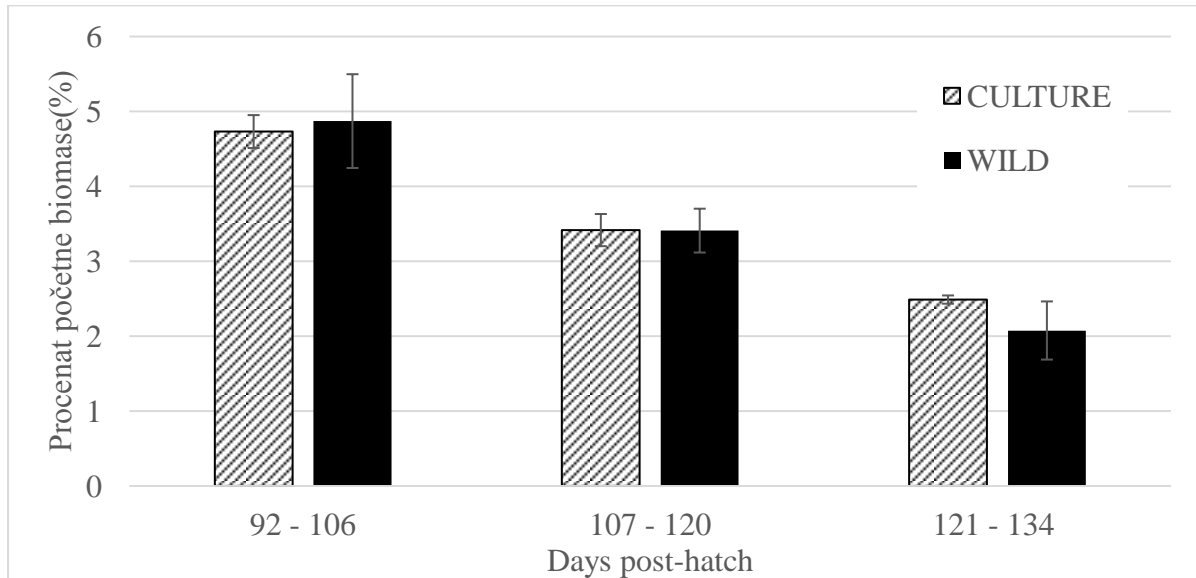


CULTURE – mlađ poreklom od matice proizvedenih u RAS-u;

WILD – mlađ poreklom od divljih matice;

SGR – specifična stopa rasta. Kolone označene zvezdicom su značajno različite ($P \leq 0,05$).

Slika 4.7. Prosečna dnevna količina ponuđene hrane za svake dve nedelje eksperimenta računata prema početnoj biomasi ocenjenoj prema prethodno izmerenoj prosečnoj masi jedinki (92-134 dana po izvaljivanju)



CULTURE – mlađ poreklom od matice proizvedenih u RAS-u;

WILD – mlađ poreklom od divljih matice;

Ribe su hranjene tri puta dnevno tokom prve dve nedelje eksperimenta i dva puta dnevno tokom naredne četiri nedelje. Pri svakom hranjenju ribe su hranjene do vidljivog zasićenja.

Nije bilo značajnih razlika među grupama.

5. DISKUSIJA

5.1. EVALUACIJA REPRODUKTIVNIH PERFORMANSI MATICA SMUĐA UZGOJENIH U RAS-U NAKON ZIMOVANJA U SPOLJAŠNJIM JEZERSKIM OBJEKTIMA

Promene u fototermalnom režimu koje se dešavaju od kasnog leta do ranog proleća (smanjenje temperature i trajanja obdanice s jeseni do početka zime, te produžavanje obdanice i porast temperature vode s proleća) stimulišu razvoj gonada kod smuđa (Fontaine et al., 2015). Zbog toga je ovaj rashladni period neophodan za indukciju mresta. Zimovanje matica odgajenih u RAS-u, u spoljašnjim jezerskim objektima je dovelo do uspešne indukcije mresta. Sve matice su preživele ovaj način zimovanja i ovulirale nakon hormonske indukcije. Jedina uočena značajna razlika među osnovnim parametrima uspeha mresta je bila u vremenu latencije, koje je bilo značajno među RRF ribama. Prema Pourhosein Saramah et al. (2012), stres uzrokovan manipulativnim postupcima sa maticama tokom mresta u delimično kontrolisanim uslovima uzrokuje odlaganje mresta na gnezdima. U tom smislu, uzrok dužeg konačnog sazrevanja ovocita bi mogao biti u nenaviknutosti divljih matica na uslove stalnog prisustva čoveka u cilju nadzora i redovne manipulacije, koje su neizostavan deo veštačkog mresta. S druge strane, ova hipoteza ostaje otvorena uzimajući u obzir rezultate studije Pourhosein Saramah et al. (2013), koja je opisala prilagodljivost divljih matica na stres uzrokovan čestim uzastopnim rukovanjem tokom mresta. Osim pomenute razlike u vremenu latencije, ostali parametri uspeha mresta su bili slični. Prema saznanjima autora, publikovana je samo jedna studija koja je opisala uspeh veštačkog mresta matica mrešćenih prvi put (Zakęs et al., 2013a). Sazrevanje gonada i indukcija mresta u toj studiji urađeni su u delimično kontrolisanim uslovima RAS-a postavljenim u staklenoj bašti. Dok je preživljavanje embriona bilo slično u ovoj i prethodno pomenutoj studiji, objavljeni rezultati od strane Zakęs et al. (2013a) o gonadosomatskom indeksu su bili niži. Opisujući uspeh različitih uzrasnih klasa RAS matica, autori prethodno pomenute studije našli su da je uspeh veštačkog mresta prvi put mrešćenih matica značajno lošiji u odnosu na starije matice. Pokazatelji uspeha mresta divljih matica u ovoj studiji bili su niži u poređenju sa ranije objavljenim studijama (Zakęs i Demska-Zakęs, 2005; Źarski et al., 2013). Ovo može biti objašnjeno i činjenicom da su ženke korišćene u ovoj studiji bile manjih telesnih dimenzija i mlađe starosne grupe, što bi moglo umanjiti uspeh mresta (Lappalainen et al., 2003; Kamler, 2005). Stoga, predlog je da buduće studije o uspehu veštačkog mresta smuđa koriste starije

uzrasne klase smuđa, matice prethodno mrešćene. Na kraju, trebalo bi spomenuti da ova studija nije ocenila kvalitet mleči mužjaka. Oplodni kapacitet sperme je od bitnog značaja za uspeh oplodnje (Rinchard et al., 2005; Casselman et al., 2006; Sarosiek et al., 2016). U skladu sa tim, kako bi umanjili efekat kvaliteta mleča na uspeh oplodnje, jaja svake ženke su oplodena mlečom dobijenim od tri mužjaka, a mleč je apliciran odmah nakon sakupljanja. Međutim, od značaja je da buduće studije ocene kvalitet mleča mužjaka različitog porekla.

Evaluacija uspeha mresta i kvaliteta gameta pomoću najčešće korišćenih parametara poput preživljavanja embriona, stope izvaljivanja i dužine novoizvaljenih larvi nije prikazala razlike među analiziranim grupama matice. Rezultati ovih parametara su bili prilično varijabilni, slično prethodnim studijama o prvom mrestu matice smuđa uzgojenih u RAS-u (Wang et al., 2009b; Zakeš et al., 2013). Visoka varijabilnost je uzrok neprimećenih statistički značajnih razlika u uspehu mresta. Ispitivanje prilagodljivosti larvi na uslove intenzivnog uzgoja bi se mogla okarakterisati kao relevantnija i pouzdanija ocena kvaliteta rasplodnog materijala. Ovakva evaluacija kvaliteta larvi različitog porekla do sada nije urađena kod smuđa. U tom smislu su, prethodne studije na larvama smuđa, kao i ostalim larvama porodice grgeča, opisale karakterističan porast mortaliteta tokom prve nedelje egzogene ishrane (Krise i Meade, 1986; Summerfelt, 1996; Kestemont i Mélard, 2000; Szkudlarek i Zakeš, 2007) gde je kao uzrok mortaliteta opisana nemogućnost započinjanja egzogene ishrane u kontrolisanim uslovima pri korišćenju žive hrane (naupliji *Artemije*) ili formulisane hrane (startera). U ovoj studiji je viđen sličan porast mortaliteta koji je završen devetog dana po izvaljivanju. Ovaj kritični period je bio značajno izraženiji među RRF larvama, uočljiv prema relativno visokom mortalitetu sedmog i osmog dana po izvaljivanju. Ovi rezultati ukazuju na veći procenat larvi nesposobnih da konzumiraju nauplije *Artemia franciscana* u uslovima intenzivnog uzgoja, što je konačno dovelo do njihovog uginuća. Iako osnovni podaci o uspehu mresta nisu ukazali na značajne razlike u kvalitetu gameta između grupa, ocena smrtnosti larvi očigledno je ukazala na smanjen kvalitet larvi RRF grupe. Dakle, ispitivanje performansi larvi u uslovima intenzivnog uzgoja predstavlja značajan alat za buduće studije o uspehu mresta smuđa.

Masne kiseline, pre svega esencijalne, mogu u visokom stepenu da utiču na kritične razvojne stadijume riba (Tocher, 2010). Mnoga istraživanja su pokazala da komercijalne hrane korišćene za uzgoj ribe mogu značajno modifikovati masno-kiselinski profil raznih tkiva (Grigorakis et al., 2002; Jankowska et al., 2003; Henrotte et al., 2010a). Iz tog razloga, više studija su uradile uporednu analizu masno-kiselinskog sastava gonada i gameta divljih i

gajenih matičnih jata (Harrell i Woods, 1995; Czesny i Dabrowski, 1998; Czesny et al., 2000; Cejas, et al., 2003; Khemis et al., 2014). U ovoj studiji, masno-kiselinski sastav ukupnih masti je bio sličan u analiziranim grupama, sa jedinom značajnom razlikom nađenom u sadržaju stearinske kiseline (18:0), koja je bila značajno niža u RRF grupi. Desaturacija zasićenih masnih kiselina je fiziološki značajna jer bitno snižava tačke topljenja odgovarajućih mononezasićenih masnih kiselina (Tocher, 2003). Moguće je pretpostaviti da su RRF ribe bile prilagođene na koncentrovanu hranu koja ima relativno visok sadržaj masti, te su stoga bile sposobne za brzu desaturaciju. Značajno viši sadržaj palmitoleinske kiseline (C16:1n-9) u frakciji neutralnih masti RRF riba podržava ovu pretpostavku. S druge strane, pokazano je da pomenuta zasićena masna kiselina može biti modifikovana različitim hormonskim indukcijama (Žarski et al., 2017), te ostali mogući razlozi za primećene razlike ne mogu biti isključeni. Nadalje, i stearinska i palmitoleinska kiselina predstavljale su veoma mali deo u ukupnom masnokiselinskom sastavu (< 2%), te pomenute razlike možemo okarakterisati kao manje značajne. Sveukupni nedostatak razlika u masnokiselinskom profilu ukazuje da su se RRF ribe dobro hranile živim plenom u jezerskim uslovima, što bi moglo da kompenzuje potencijalan deficit u esencijalnim masnim kiselinama. U svakom slučaju, potrebne su dodatne studije koje bi potvrdile mogućnost modifikacije masnokiselinskog sastava jaja smuđa tokom kratkog perioda pre mresta.

Uzimajući u obzir zastupljenost klasa masti, jaja riba možemo deklarisati u dve kategorije – jaja bogata fosfolipidima i jaja bogata neutralnim mastima (Tocher, 2003). Prema ovoj studiji, kao i rezultatima Wang et al. (2009b), smuđa možemo klasifikovati u drugu grupu. S druge strane, uloga fosfolipida u ranom razvoju larvi je ključna shodno činjenici da su larve ili nesposobne ili imaju ograničenu sposobnost sinteze fosfolipida *de novo* (Geurden et al., 1995; Coutteau et al., 1997; Sargent et al., 2002). Međutim, i dalje je nejasno da li se esencijalne masne kiseline asimiliraju odvojeno iz molekula fosfolipida. Ukoliko je tako, masnokiselinski sastav frakcije polarnih masti bi imao direktan uticaj na razvoj tkiva, shodno tome da je ta frakcija kod ribljih jaja generalno bogatija visokonezasićenim masnim kiselinama u odnosu na neutralne masti (Tocher, 2003). Stoga, razlog za viši mortalitet RRF larvi mogle bi biti značajne razlike među visokonezasićenim masnim kiselinama frakcije fosfolipida, pre svega u odnosu EPA/ARA. Značaj EPA/ARA odnosa proističe iz njihove kompeticije za različite prostaglandine (Sargent, 1995), što utiče na reproduktivna svojstva (Sorbera et al., 2001). Uloga arahidonske kiseline i EPA/ARA odnosa je već prepoznata u ishrani matica (Bell et al., 1997; Bruce et al., 1999; Bromage et

al., 2001; Mazorra et al., 2003; Henrotte et al., 2010b), kao i larvi (McEvoy et al., 1998; Estevez et al., 1999; Estevez et al., 2001; Willey et al., 2001; Hamza et al., 2008). Manipulacija sadržaja fosfolipida u hrani larvi smuđa pri početku egzogene ishrane je prilično zahtevan i komplikovan zadatak (Coutteau et al., 1997), dok s druge strane nekoliko dana endogene ishrane već može ostaviti traga. Stoga, radi valjane ocene nagoveštaja ove studije, od značaja bi bilo da buduće studije ispituju optimalan sadržaj i sastav fosfolipida, kao i ukupni masnokiselinski sastav koncentrovane hrane za matice smuđa uz specijalnu pažnju na arahidonsku kiselinu i EPA/ARA odnos.

Zimovanje matica proizvedenih u RAS-u u spoljašnjim jezerskim objektima rezultiralo je valjanom indukcijom sazrevanja gonada, te su sve ispitane ženke ovulirale. Po svemu sudeći, niži kvalitet larvi je posledica suboptimalne ishrane matica, što bi trebalo biti zadatak budućih studija, uz poseban osvrt na EPA/ARA odnos i sadržaj i sastav fosfolipida u koncentrovanoj hrani. Uspeh veštačkog mresta matica odgajenih u RAS-u bio je sličan divljim maticama. Stoga, sa aspekta proizvodne efikasnosti može se zaključiti da je kao tehnološki proces jezersko zimovanje matica proizvedenih u RAS-u odgovarajuće. Međutim, tehnologija uzgoja matica smuđa te pre svega protokol indukcije mresta, zahteva dodatne studije radi unapređenja i optimizacije.

5.2. UTICAJ PROTOKOLA ISHRANE TOKOM PRELASKA SA ŽIVE NA KONCENTROVANU HRANU NA RAST I PREŽIVLJAVANJE LARVI SMUĐA

Tranzicija od embriona do egzogene ishrane je odsudan momenat u ranoj fazi razvoja percida jer neuspeh prvog hranjenja ima za ishod uginuće jedinke (Balon, 1984). Kestemont et al. (1995) su ukazali da je razvijenost digestivnog sistema larvi glavni parametar razvića larvi pri određivanju optimalne starosti za otpočinjanje procesa tranzicije ishrane sa žive na koncentrovanu hranu. Nadalje, detaljno je opisano kako kombinovano hranjenje živom i koncentrovanom hranom, takozvana prihrana poboljšava performanse larvi iznad onih koje su moguće pri korišćenju bilo koje od hrana samostalno (Kanazawa et al., 1989; Holt, 1993; Abi-Ayad i Kestemont, 1994), te da prihrana takođe omogućuje raniju konačnu tranziciju na suhu hranu (Person Le Ruyet et al., 1993). U svetlu rezultata ove studije sedmodnevna prihrana se čini povoljnijom u odnosu na kraću, četvorodnevnu, što bi moglo biti objašnjeno smanjenjem uticaja atraktivnosti žive hrane na odgovor hranjenja sa razvojem larve. U tom smislu, Kolkovski et al. (1997a, b) su objasnili kako Artemija pozitivno utiče na uzimanje, varenje i asimilaciju veštačke hrane tokom prihrane i što potiče od vizuelnih i hemijskih stimulusa plivajućih živih nauplija. Izlučeni metaboliti nauplija stvaraju hemijski stimulus koji pomaže larvi da se orijentiše prema hrani, te joj dalji stimulus koji dolazi od pokretljivosti zooplanktona omogućava da prepozna hranu, što unapređuje uspeh ranog hranjenja. U svakom slučaju, sa razvojem larvi ovi uticaji po svemu sudeći slabe, te pri višem stupnju razvoja ribe bivaju sposobnije da prepoznaju inertnu hranu.

Mortalitet smuđa tokom intenzivnog uzgoja larvi prati bimodalnu krivu (Szkudlarek i Zakeš, 2007). Prvi period povećanog broja uginuća povezan je sa tranzicijom sa endogene na egzogenu ishranu i punjenjem ribljeg mehura. Međutim, sledeći kritičan period nastupa sa pojavljivanjem kanibalizma. U ovoj studiji pronađen je značajno viši mortalitet tokom procesa tranzicije ishrane larvi sa žive na suhu hranu, što sa jedne strane nagoveštava da ova procedura povećava kanibalizam, ali sa druge strane ovaj mortalitet može biti uzrokovan nemogućnošću larvi da prepoznaju pelete kao hranu. Smanjen mortalitet u tretmanu duže prihrane svedoči da ovakva strategija poboljšava hranjenje suvom hranom i smanjuje udeo izgladnelih larvi. Stoga, duži protokol ishrane sa optimalnim odnosom koncentrovane i žive hrane je potreban radi smanjenja gubitaka tokom tranzicije ishrane larvi. Takođe, povećana dostupnost hrane uz korišćenje automatskih hranilica bi mogla značajno unaprediti uspeh prihvatanja koncentrovane hrane.

Kanibalizam predstavlja ozbiljnu prepreku pri uzgoju predatorskih ribljih vrsta, a najveći gubici uzrokovani ovom pojavom se najčešće dešavaju tokom larvalnog razvića (Kestemont et al., 2003). U ovoj studiji, prvi znaci kanibalizma primećeni su sa 15 DPV, što je u saglasnosti sa prethodnim izveštajem Hamza et al. (2007). Uticaj žive hrane na kanibalizam larvi nije u potpunosti objašnjen (Baras i Jobling, 2002; Kestemont et al., 2003). Kako god, shodno energetske vrednosti hrane koja je po zalogaju daleko veća u odnosu na žive nauplije, Baras i Jobling (2002) su ukazali na značajno brži prirast larvi koje ranije prihvate koncentrovanu hranu u poređenju sa larvama koje se i dalje hrane isključivo živim plenom. Takva pretpostavka objašnjava rezultate ove studije koji svedoče u korist toga da duže izlaganje živoj hrani može rezultovati povećanim gubicima zbog kanibalizma. Sličan uticaj žive hrane na kanibalizam kod larvi smuđa opisali su Kestemont et al. (2007) koji su zapazili značajno nižu stopu kanibalizma kod larvi ranije prevedenih na suhu hranu. Rezultati ove, kao i prethodnih studija o intenzivnom uzgoju smuđevih larvi ukazuju na to da je kanibalizam neizbežna karakteristika ove tehnologije. Slična zapažanja izneli su Szkudlarek i Zakęś (2007). Međutim, povećanje mortaliteta usled kanibalizma u ovoj studiji se desilo ranije i imalo je veće posledice u poređenju sa prethodno pomenutom studijom. Ovo bi moglo biti objašnjeno različitim strategijama ishrane i fotoperiodom u ove dve studije. Kako bi smanjili posledice ove neizbežne pojave tokom ranog uzgoja, prethodno pomenuti autori, kao i autori studija izvedenih na uzgoju larvi severnoameričkog smuđa (Summerfelt, 1996; Summerfelt et al., 2011) predložili su konstantno hranjenje do zasićenja suvom hranom odgovarajućeg kvaliteta korišćenjem mehaničkih hranilica uz upotrebu stalnog dnevnog režima (24 L:0 D). Konačno, sortiranje post-larvi je predloženo kao efikasan alat za smanjenje gubitaka tokom ovog kritičnog perioda (Szczepkowski et al., 2011).

Konačna prosečna masa larvi se kretala među tretmanima od 30,5 i 84,3 mg na kraju eksperimenta (27 DPV) i bila je značajno uslovljena različitim protokolima ishrane. Raspon srednjih masa prethodno objavljenih studija larvi smuđa se kretao od 25 mg sa 27 DPV (Kowalska et al., 2006) do 110 mg sa 25 DPV (Szkudlarek i Zakęś, 2007). Viša srednja masa u prethodno pomenutoj studiji je verovatno uzrokovana boljim uzgojnim okolnostima te adekvatnijom korišćenom starter hranom. Pozitivan uticaj protokola ishrane sa dužim korišćenjem žive hrane na prirast larvi ukazuje na dva moguća pozitivna uticaja žive hrane. Moguće je da enzimi digestivnog trakta živih nauplija olakšavaju varenje (Dabrowski, 1984; Lauff i Hofer, 1984). S druge strane, produkti autolize živog plena (naupija Artemije) mogu stimulisati izlučivanje tripsinogena iz pankreasa i uticati na aktivaciju zimogena u želucu

(Person Le Ruyet et al., 1993). Takođe, prethodno spomenuti pozitivan uticaj plivanja nauplija na odgovor hranjenja (Kolkovski et al. 1997a) može imati značajan uticaj na ovakav ishod.

Varijacija veličine larvi je pokazatelj od izuzetnog značaja pri uzgoju larvi predatorskih vrsta, i shodno tome da može dovesti do visokih gubitaka usled kanibalizma, ukazanim od strane nekoliko autora (Kubitza i Lovshin, 1999; Baras i Jobling, 2002; Kestemont et al., 2003). U ovoj studiji opisan je visok koeficijent varijacije mase od 83,6 % do 116,3 %, koji je bio sličan među tretmanima, a u saglasnosti je sa rezultatima Kestemont et al. (2007), koji su takođe objavili visoku varijaciju mase pri uzgoju larvi smuđa starterima za morske vrste. U tom smislu, Baras i Jobling (2002) su našli povezanost između pogodnosti suve hrane na pojavu kanibalizma. Stoga, hrana povoljnih karakteristika za larve smuđa mogla bi nadalje smanjiti varijaciju veličine te dalje rezultovati manjim gubicima zbog kanibalizma.

Rezultati ove studije prikazali su da sedmodnevna tranzicija sa žive na suhu hranu od 15 do 22 DPV dovodi do boljeg prirasta i višeg preživljavanja larvi smuđa u poređenju sa četvorodnevnom protokolom, od 15 do 19 DPV. Uz to, protokol prihrane je povoljniji od protokola dohrane živom hranom sa aspekta nižeg mortaliteta, višeg prirasta i konačno maksimalnog ukupnog prinosa. Dva protokola prve egzogene ishrane opisana su u kulturi larvi smuđa (FAO, 2012). Dakle, prema rezultatima ove studije, u tehnologiji zasnovanoj na prvom hranjenju larvi isključivo živom hranom, strategija prihrane u trajanju od 7 dana 15 – 22 DPV može biti praćena radi uspešne tranzicije ishrane larvi smuđa sa žive na koncentrovanu hranu.

5.3. UTICAJ GUSTINE NASADA, TEHNIKE HRANJENJA I OBOGAĆIVANJA VITAMINOM C NA NAVIKAVANJE NA KONCENTROVANU HRANU JEZERSKI GAJENIH MLADUNACA SMUĐA

Rezultati jednosmerne analize varijanse nisu pokazali značajne razlike u uspehu navikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na koncentrovanu hranu. Ovakav ishod u saglasnosti je sa prethodnim studijama za evropskog smuđa (Szkudlarek i Zakęs, 2002; Molnar et al., 2004), kao i severnoameričkog smuđa (Kuipers i Summerfelt, 1994). Međutim, korelaciona analiza je otkrila značajnu pozitivnu zavisnost između početne gustine nasada i uspeha navikavanja na suhu hranu. Takav zaključak je izveden nakon rezultata o uticaju gustine nasada na uspeh privikavanja jezerski gajene mlađi smuđa na suhu hranu u studiji izvedenoj od strane Policar et al. (2013). I dok je prethodno pomenuta studija ispitivala gustine nasada i do osam riba po litru, zajedničko za ovu i ostale spomenute studije, u kojima pomenuti značajan efekat nije pronađen, jeste da su koristile relativno niske gustine nasada (0,5 - 4 ribe L⁻¹). Moguće je da ovaj faktor pokazuje приметniji efekat pri većim gustinama. Iako efekat nije otkriven jednosmernom analizom varijanse, jaka zavisnost nađena je kroz Pirsonovu korelaciju koja bi mogla biti pouzdaniji pokazatelj pri studijama o gustini nasada. Sličan statistički metod korišćen je radi opisivanja efekta gustine nasada pri uzgoju larvi smuđa (Szkudlarek i Zakęs, 2007). Stoga, uzimajući u obzir rezultate ove studije, kao i rezultate studije Policar et al. (2013) i protokol objašnjen za navikavanje mlađi severnoameričkog smuđa (Summerfelt et al., 2011), gustine nasada 4-8 riba po litru mogu biti predložene za navikavanje jednomesečne mlađi smuđa na suhu hranu u industrijskim uslovima.

Pokazano je da obogaćivanje žive hrane vitaminom C u uzgoju larvi smuđa i severnoameričkog smuđa dovodi do smanjenja deformiteta, te povećava prirast i otpornost na stres (Kolkovski et al., 2000; Kestemont et al., 2007). Razlike među svim ocenjenim parametrima u ovoj studiji nisu dostigle nivo statističke značajnosti. Ipak, prilično niske *p*-vrednosti su pokazane u nekoliko bitnih parametara: preživljavanju, specifičnoj stopi rasta i krajnjoj masi; svi u pravcu poboljšanja pri obogaćivanju hrane vitaminom C. Ove razlike nagoveštavaju pozitivan uticaj obogaćivanja. Moguće je da je prilično nizak uspeh navikavanja na koncentrovanu hranu razlog zašto ovaj bitan dodatak ishrani nije pokazao istaknutiji uticaj. Stoga, postoji razlog za dodatne studije. Analiza sadržaja vitamina C u tkivu nauplija *Daphnia* spp. pokazala je da je jednočasovna kupka u rastvoru l-askorbinske kiseline

1 g L⁻¹ dovoljna za značajno obogaćivanje. U slučaju ribljeg tkiva, statistički značajna razlika između tretiranih i netretiranih riba nije dostignuta. Međutim, nakon deset dana obogaćivanja žive hrane vitaminom C, u tkivu tretiranih riba nađen je 148% viši sadržaj vitamina C u odnosu na kontrolne ribe ($8,0 \pm 2,1 \mu\text{g g}^{-1}$ u VitC, odnosno $5,4 \pm 2,0 \mu\text{g g}^{-1}$ u Feeder tretmanu).

U skladu sa nagoveštenim uticajem bitnog sastojka ishrane kao što je vitamin C na mlađ smuđa, možemo pretpostaviti da bi korišćenje prirodne hrane više nutritivne vrednosti bogate esencijalnim masnim kislinama, kao što je *Chironomus* spp. (Bogut et al., 2007; Kamler et al., 2008), moglo dovesti do poboljšanja tehnologije navikavanja na koncentrovanu hranu. Prednost *Chironomus* spp. naspram *Daphnia* spp. pri navikavanju jezerske mlađi smuđa na suhu hranu, prethodno je pronađen u studiji Bódis et al. (2007) i mogao bi biti jedan od razloga za slabiji uspeh navikavanja u ovoj studiji. U eksperimentima ove studije korišćeni su *Daphnia* spp. i *Tubifex* spp. kao prirodne hrane. Osim nutritivne, postoji još jedna prednost crvolikih organizama naspram planktonskih račića, u vezi sa njihovim plivačkim sposobnostima. Pri aplikaciji, *Daphnia* spp. se momentalno rašire po celoj uzgojnoj zapremini tanka, dok crvi ostaju prilično koncentrisani u blizini mesta hranjenja, što dovodi do bolje koncentracije ribe na mestu aplikacije hrane, te posledično većem procentu zalogaja peletirane hrane.

Iako je mehanička aplikacija hrane automatskim hranilicama opisana kao poželjan metod pri navikavanju jezerske mlađi severnoameričkog smuđa na suhu hranu (Summerfelt, 1996; Summerfelt et al., 2011), valja ukazati na jednu prednost manuelnog hranjenja u tehnologiji navikavanja mlađi smuđa. Metodologija privikavanja na suhu hranu, opisana od strane Policar et al., 2013a, je visoko zavisna od ručnog hranjenja. Naime, prethodno pomenuti autori su objavili najpovoljnije rezultate ovog tehnološkog procesa uz primenu mešane koncentrovane i prirodne hrane. Ova metodologija podrazumeva mešanje hrane neposredno pred aplikaciju, te nadalje postepenu izmenu u udelu smese od prirodne do isključivo veštačke hrane (Horváth et al., 2013). Stoga, slični rezultati uspeha navikavanja ručnom ($11,2 \pm 3,9 \%$), odnosno mehaničkom aplikacijom hrane ($11,4 \pm 0,7 \%$), uz visoku *p*-vrednost ($p = 0,860$) svedoče da ručna aplikacija i pre svega češći susret ribe sa čovekom ne rezultuje nižim konačnim uspehom. Međutim, niži prirast i viši stepen kanibalizma ostvareni su u ručno hranjenoj grupi. Moguće objašnjenje za ovakav ishod jeste češća dostupnost peleta, a sa time i uzimanje hrane nakon navikavanja dela riba na koncentrovanu hranu. Iz tog

razloga, mehanička aplikacija hrane bi mogla biti povoljnija metodologija hranjenja nakon eliminacije udela prirodne hrane u ukupnom obroku.

Uspeh navikavanja na koncentrovanu hranu u ovoj studiji je niži u odnosu na prethodno objavljene studije (Szkudlarek i Zakeš, 2002; Policar et al., 2013a). Postoji nekoliko potencijalnih objašnjenja za ovakav ishod. Pre svega, u ovoj studiji je korišćena krupnija mlađ u odnosu na prethodno pomenute. Prema rezultatima Policar et al. (2013a), navikavanje na suhu hranu mlađi niže prosečne mase je značajno uspešnije. Nadalje, u prvih pet dana navikavanja, kao dodata prirodna hrana korišćena je isključivo *Daphnia* spp. Prema rezultatima Bódis et al. (2007) korišćenje *Tubifex* spp. i *Chironomus* spp. kao prirodne hrane dovodi do uspešnijeg prihvatanja hrane. Konačno, sa utvrđenim uticajem gustine nasada, može se nagovestiti da bi dalje povećanje ovog faktora dovelo do višeg udela riba koje su prihvatile suhu hranu. Takođe, treba imati na umu i razliku u prezentaciji rezultata ove studije i prethodno pomenutih. Dok je u ostalim studijama glavni parametar uspeha navikavanja na koncentrovanu hranu bilo preživljavanje, ovde je uključen parametar "uspeh navikavanja", koji predstavlja udeo naviknute ribe u odnosu na početno nasađen broj riba. Sličan parametar prethodno je opisan u studiji o navikavanju jednogodišnje mlađi smuđa na koncentrovanu hranu (Horváth et al., 2013). Prihvaćenost suve hrane je bila prilično očigledna karakteristika na preživelim ribama, shodno tome da su ribe hranjene petnaest dana suvom hranom isključivo pa su nenaviknute ribe bile u vidno lošijoj kondiciji u odnosu na naviknute. Takođe, očigledni kanibali su redovno izlovljavani iz tanka, te je njihova prisutnost u naviknutim ribama eliminisana. Konačno, slični rezultati su i dalje periodično prisutni pri navikavanju mlađi na koncentrovanu hranu u industrijskim uslovima (Zoltán Horváth, H & H Carpio Ltd., lična komunikacija).

Na osnovu ishoda korelacione analize može se zaključiti da uspeh navikavanja ekstenzivno proizvedene mlađi smuđa na koncentrovanu hranu raste sa povećanjem gustine nasada. Obogaćivanje žive hrane vitaminom C rezultiralo je povećanim uspehom navikavanja na suhu hranu i višim prirastom riba, međutim bez statistički značajnih razlika. Manuelna aplikacija suve hrane nije dovela do nižeg uspeha ove procedure. Zbog toga, početne gustine nasada od četiri do osam riba po litru, ručna aplikacija pomešane koncentrovane i prirodne crvolike hrane, uz mogućnost obogaćivanja vitaminom C, predložene su pri komercijalnom navikavanju jezerski gajene mesečne mlađi smuđa na koncentrovanu hranu. Međutim, izuzetno je bitno da buduće studije dalje razjasne detalje ove tehnologije, radi pouzdane i sigurne metodologije navikavanja jezerski gajene mlađi na uslove intenzivnog uzgoja.

5.4. UTICAJ POREKLA RODITELJA SMUĐA NA REZULTATE POTOMSTVA TOKOM NAVIKAVANJA NA KONCENTROVANU HRANU I INTENZIVNOG UZGOJA PROIZVEDENE MLADI

Jezerski odgojena mesečna mlađ poreklom od intenzivno gajenih matica je prikazala niži uspeh navikavanja na uslove uzgoja u RAS-u u odnosu na mlađ divljeg porekla. Osnovni razlog za niži uspeh navikavanja bi mogao biti viši kanibalizam tokom perioda navikavanja na suhu hranu. Po pitanju odnosa između veštačke selekcije i agonističkog ponašanja dosadašnji literaturni podaci su prilično nestabilni. Naime, dok su neke studije prijavile smanjenu agresivnost kod riba pod procesom domestikacije (Robinson i Doyle 1990; Ruzzante i Doyle, 1991, 1993), u drugim studijama opisana je potpuno suprotan odnos između ovih faktora (Swain i Riddell, 1990; Mesa, 1991), gde su divlje ribe prikazale mirnije ponašanje u odnosu na domestikovane. Pojava kanibalizma je neizbežna u intenzivnom uzgoju predatorskih vrsta riba (Kubitza i Lovshin, 1999; Kestemont et al., 2003), a prilično visoki gubici usled kanibalizma prijavljeni su pri tranziciji ishrane sa žive na koncentrovanu hranu kod larvi (Ljubobratović et al., 2015a) i juvenila smuđa (Szkudlarek i Zakęś, 2002). Stoga se gubici usled kanibalizma mogu okarakterisati kao znak agonističkog ponašanja ove vrste. Rezultati ove studije svedoče da su ribe iz CULTURE grupe bile agresivnije tokom perioda navikavanja na suhu hranu. Međutim, tokom narednog perioda, nakon navikavanja na suhu hranu, značajno viši kanibalizam zabeležen je među ribama WILD grupe. Ovi podaci ukazuju da su ribe poreklom od intenzivno gajenih matica bile agresivnije do trenutka prihvatanja koncentrovane hrane, da bi sa početkom uzimanja suve hrane pokazale mirnije ponašanje.

Uprkos prikazanim indikacijama o razlici u ponašanju između populacija različitog roditeljskog porekla, treba uzeti u obzir nekoliko činjenica. Pre svega, pri izlovu iz jezera, znaci kanibalizma su bili primetni u CULTURE grupi, što nije primećeno među WILD ribama. Ribe značajno većih dimenzija su odstranjene prilikom postavke ogleđa, međutim početni koeficijent varijacije individualne mase je ostao viši u CULTURE grupi (18,5 % i 13,2 % u CULTURE, odnosno WILD grupi). Pored porekla, moguće je da postoji dodatni razlog za različit ishod ekstenzivnog uzgoja larvi. Iako su jezera bila pozicionirana jedno do drugog, istih dimenzija i iste tehnologije biomanipulacije, usled nedostatka replikacija, uticaj samog jezera ne može biti isključen. U tom smislu, treba napomenuti da cilj ove studije nije bilo poređenje efikasnosti jezerskog i intenzivnog sistema uzgoja smuđa, već isključivo poređenje uticaja porekla roditelja na kulturu smuđa nakon početne faze u ekstenzivnim

uslovima. Pomenuta razlika u heterogenosti nasadnog materijala mogla je uticati na stepen kanibalizma tokom perioda navikavanja na koncentrovanu hranu. S druge strane, na početku sledećeg perioda nakon navikavanja na suhu hranu, početna gustina (prikazana kao broj riba po jedinici zapremine) bila je viša u WILD grupi (četiri ribe po litru u WILD, odnosno tri ribe po litru u CULTURE grupi). Međutim, prema prethodnim studijama o uticaju gustine nasada na navikavanje na suhu hranu jezerske mlađi smuđa, ovaj parametar nema značajan uticaj na stepen kanibalizma (Szkudlarek i Zakęs, 2002; Molnar et al., 2004; Policar et al. 2013a; Ljubobratović et al., 2016).

U pogledu prirasta, uočene razlike između perioda navikavanja na suhu hranu i sledećeg devetodnevno perioda prate isti smer primećen za kanibalizam tokom ovih perioda. Dok je među CULTURE ribama prirast veći u prvom periodu, WILD ribe su značajno bolje rasle u toku sledećeg perioda. Stoga, moguće je da je kanibalizam uzrok zapažene više stope rasta, jer su najverovatnije najsitnije jedinke postajale plen krupnijim jedinkama. Shodno svim prethodno pomenutim faktorima koji bi mogli da poremete konačan zaključak, krajnji odgovor o smeru uticaja rane domestikacije na uspeh navikavanja jezerski gajene mlađi na intenzivne uslove ne može biti dat. Može se pretpostaviti da tokom ovog dela kulture smuđa, tehnologija ima snažniji uticaj na konačan uspeh, naspram porekla mlađi. Dodatne studije su neophodne radi donošenja nedvosmislenog zaključka.

I dok rezultati o uticaju rane domestikacije na proceduru navikavanja na koncentrovanu hranu nisu doveli do jasnih zaključaka, pri ispitivanju uzgoja proizvedene tromesečne mlađi pripremljene za RAS uzgoj pozitivan efekat je prilično jasan: ribe iz CULTURE grupe prikazale su konstantno višu stopu rasta koja je dostigla nivo značajnosti već nakon četiri nedelje eksperimenta, dok je dnevna stopa rasta bila duplo viša u poređenju sa WILD ribama. Iako ne potpuno ubedljivi, prethodni rezultati sa starijom mlađi ukazali su na moguć sličan efekat na prirast rane domestikacije kod mlađi poreklom od ekstenzivno gajenih matica u poređenju sa divljim (Ljubobratović et al. 2015b). Poređenja radi, sličan uticaj rane domestikacije pronađen je kod brancina (Milot et al., 2010). U pomenutoj studiji ribe poreklom od prve generacije intenzivno gajenih matica pokazale su značajno bolje performanse intenzivnog uzgoja u odnosu na ribe poreklom od divljih matica u uslovima povećanog stresa izazvanim nestabilnim parametrima okoline. Prema rezultatima te studije, razlog za bolji prirast nađen je pre svega u boljem apetitu riba pod domestikacijom u datim okolnostima, a ne u boljoj iskorišćenosti hrane. Rezultati ove studije ne ukazuju na isti efekat kod mlađi smuđa. Naime, količina date hrane u ovoj studiji je zavisila od interesa riba, odnosno njihovog apetita, i tokom sva tri dvonedeljna perioda nije bilo statistički značajnih

razlika u količini ponuđene hrane između grupa. S druge strane, konverzija hrane je bila značajno niža u CULTURE grupi. Međutim, ocenjena konverzija hrane nije apsolutna, shodno tome da zaostala hrana nije proračunata. Stoga, izneseni podaci imaju prevashodno informativni karakter i pre bilo kakvih snažnijih zaključaka potrebne su dodatne studije.

Parametri rasta postignuti u ovoj studiji su u saglasnosti sa prethodnim studijama o uzgoju mlađi smuđa slične veličine. Srednja specifična stopa rasta u ovoj studiji bila je $3,1 \pm 0,0$ i $2,3 \pm 0,3$ % dan⁻¹ u CULTURE, odnosno WILD grupi. Na srednjoj temperaturi od 22 °C Zakęš et al. (2006) objavili su srednju specifičnu stopu rasta od $2,45 \pm 0,05$ % dan⁻¹ u najboljem tretmanu šestonedeljne studije, dok su Wang et al. (2009a) pri temperaturi od 28°C ostvarili specifičnu stopu rasta od $2,0 \pm 0,04$ % dan⁻¹ nakon osmonedeljnog uzgoja mlađi slične veličine. Bolji prirast prijavili su Kozłowski et al. (2010) koji su pri dvanaestonedeljnog uzgoju mlađi smuđa pri srednjoj temperaturi od 24,4 °C ostvarili specifičnu stopu rasta od $3,61 \pm 0,03$ % dan⁻¹. Shodno prethodno navedenim objavljenim rezultatima, možemo zaključiti da su u ovoj studiji ostvareni prihvatljivi uslovi za intenzivan odgoj tromesečne mlađi smuđa.

Prema dosadašnjoj objavljenoj literaturi, ova studija predstavlja prvu ocenu efekta rane domestikacije kroz uticaj roditeljskog porekla na dva kritična perioda kulture mlađi smuđa. Poznato gajeno poreklo roditelja nije dovelo do višeg uspeha navikavanja jezerske mlađi na uslove intenzivnog uzgoja. Stoga, usled nekoliko ometajućih faktora, pre izvođenja konačnog zaključka, možemo pretpostaviti da je uticaj tehnologije značajno bitniji od porekla. Međutim, proizvedena tromesečna mlađ smuđa poreklom od intenzivno gajenih matica prikazala je značajno bolje performanse uzgoja. U tom smislu, rezultati ove studije ukazuju da bi uzgajivački program značajno povećao efikasnost uzgoja smuđa u RAS-u.

6. ZAKLJUČCI

Korišćenje intenzivno gajenih matica smuđa za veštački mrest i proizvodnju larvi za potrebe intenzivnog uzgoja je slabo istražena oblast u relativno mladoj tehnologiji intenzivnog uzgoja smuđa. U ovoj disertaciji, po prvi put je ispitana mogućnost jezerskog zimovanja matica smuđa proizvedenih u RAS-u, uz posebnu pažnju datu evaluaciji kvaliteta jaja i larvi. Evaluacijom najčešće korišćenih parametara uspeha veštačke reprodukcije riba, kroz preživljavanje embriona, stopu izvaljivanja larvi, te dužinu novoizvaljenih larvi, nisu uočene značajne razlike u kvalitetu reproduktivnog materijala. Nadalje, prvi put u slučaju smuđa, opisan je kvalitet larvi prema njihovoj sposobnosti preživljavanja u intenzivnim uslovima. U tom smislu, rezultati su pokazali da je značajno veći udeo larvi poreklom od matica uzgojenih u RAS-u bio neuspešan u početku egzogenog hranjenja najčešće korišćenom živom hranom u industrijskim uslovima, sveže izvaljenim nauplijima *Artemia franciscana*. Ovakva evaluacija ukazala je na niži kvalitet reproduktivnog materijala, koji osnovni parametri mresta nisu mogli da prikažu. Radi dodatne analize kvaliteta, ispitan je masno-kiselinski sastav suvih jaja. Generalno, masno-kiselinski sastav jaja bio je pretežno sličan među grupama. Međutim, najuočljivija razlika potekla je iz razlike u procentu arahidonske kiseline. U proseku, procenat arahidonske kiseline je u svim analiziranim frakcijama bio oko dva puta niži u RAS maticama, međutim zbog zapažene visoke varijacije unutar grupe, statistička analiza nije pokazala značajne razlike. Ipak, u frakciji fosfolipida nađena je, za reprodukciju vrlo bitna, statistički značajna razlika u odnosu EPA/ARA, u ovom slučaju bivajući u proseku pet puta manja kod riba gajenih u RAS-u. Dakle, ova studija je ukazala na vrlo složenu problematiku valjane evaluacije uspeha mresta kod smuđa. Uz opasku da je kvalitet dobijenog nasadnog materijala kod RAS riba bio niži u odnosu na divlje matice, osnovni zaključak je da zimovanje RAS matica u uslovima tradicionalnog ekstenzivnog jezerskog ribarstva jeste povoljan način za indukciju mresta ovih riba, međutim osnovni naglasak u daljem razvoju tehnologije bi trebalo dati razvoju kvalitetne hrane za matična jata tokom uzgoja u RAS-u.

Tranzicija ishrane sa žive na suhu hranu je izuzetno kritičan period u intenzivnom odgoju larvi smuđa, što je još jednom prikazano kroz drugu studiju ove disertacije. Međutim, za razliku od prethodnih studija, ispitivanjem različitih strategija ishrane tokom ovog perioda ukazano je na to koliko način i trajanje suplementacije živom hranom mogu uticati na krajnji uspeh uzgoja. Stoga, iako je živa hrana osnovni izvor troškova u intenzivnom uzgoju larvi, od

izuzetnog je značaja za konačan uspeh kulture obezbediti optimalnu prihranu nauplijima artemije te je postepeno isključiti iz ishrane. Nadalje, druga studija je pokazala da tokom tranzicije ishrane larvi kanibalizam može biti uzrok visokih gubitaka, te da je u bliskoj vezi sa trajanjem suplementacije živom hranom, koja sa druge strane poboljšava krajnji uspeh uzgoja. Stoga bi, u narednim studijama naglasak trebalo dati načinu aplikacije suve hrane, te njenom kvalitetu i pogodnosti za larve smuđa, što bi moglo doprineti značajnom smanjenju ovog neizbežnog fenomena kod larvi predatorskih vrsta.

Navikavanje jezerski gajene mesečne mlađi smuđa na koncentrovanu hranu je prilično povoljna alternativa intenzivnom uzgoju larvi za sezonsku proizvodnju visokokvalitetnog nasadnog materijala za RAS odgoj. Trećom studijom ove disertacije pokazano je da sa povećanjem gustine nasada raste i procenat mlađi naviknute za suhu hranu, što je od izuzetnog značaja za ekonomičnost proizvodnje. Buduće studije bi trebalo da ispituju do kog nivoa je ovaj uticaj pozitivan, odnosno kada povećanje gustine nasada vodi do smanjenja uspeha. Suplementacijom žive hrane vitaminom C, pokazano je da bi ovaj dodatak ishrani mogao da ima značaja na uspeh navikavanja. Međutim, iako su osnovni parametri uzgoja bili pozitivno izmenjeni u ovom tretmanu, statistički značajne razlike nisu uočene, što je verovatno posledica niskog uspeha navikavanja na koncentrovanu hranu. Stoga, buduća istraživanja u unapređenim uslovima bi mogla biti upućena ovom, kao i drugim dodacima ishrani, poput esencijalnih masnih kiselina, čiji je pozitivan uticaj pokazan pri intenzivnom uzgoju larvi. Prikazani slični rezultati različitog načina aplikacije hrane tokom navikavanja na suhu hranu, te observacija da crvoliki organizmi kao prirodna hrana imaju prednosti u odnosu na plivajući plankton, doveli su do unapređenja korišćene tehnologije pokazanim, značajno povoljnijim rezultatima, ostvarenim u četvrtoj studiji. Deo četvrte studije posvećen navikavanju ekstenzivno gajene smuđeve mlađi nije našao pozitivan efekat korišćenja mlađi poreklom od gajenih matica. Shodno trenutnom nivou razvoja tehnologije uzgoja smuđa, ovaj podatak se u neku ruku može smatrati i povoljnim za dalje širenje ove kulture. Naime, trenutno je osnovna kočnica daljem razvoju intenzivnog uzgoja smuđa nestabilna proizvodnja nasadnog materijala za RAS farme srednjeg i visokog kapaciteta. S druge strane, matice proizvedene u RAS-u su vrlo dragocen i gotovo nedostupan materijal za novo formirane farme i mrestilišta, te je sa tog aspekta povoljnost korišćenja larvi poreklom od divljih i ekstenzivno gajenih matica olakšavajuća okolnost u pomenutim uslovima.

Konačno, pronađene unapređene performanse rasta u RAS uzgoju mlađi poznatog porekla predstavljaju dalji podstrek za razvoj ove tehnologije. Naime, u slučaju definisanja

većine parametara potrebnih za stabilnu proizvodnju mlađi, sledeći korak će svakako biti unapređenje genetičkog potencijala gajenih životinja. Trenutno, uzgoj smuđa u optimalnim uslovima zahteva vremenski period duži od godine. Shodno tome, sledeći korak u razvoju ove tehnologije biće svakako skraćenje uzgojnog perioda, pre svega korišćenjem brže rastućih životinja poreklom od visoko kvalitetnih matičnih jata. Ova disertacija je prikazala do sada neispitani efekat korišćenja mlađi poznatog porekla, te predstavlja ohrabrujući korak ka daljim opširnijim studijama i uspostavljanju budućih odgajivačkih programa.

Kao osnovni cilj ove disertacije je definisano unapređenje tehnologije proizvodnje mlađi smuđa pripremljene za intenzivan uzgoj. Sa svoje četiri studije disertacija je dotakla sve momente ovog proizvodnog procesa – veštački mrest, intenzivan uzgoj novoizvaljenih larvi, tranziciju ishrane larvi sa žive na koncentrovanu hranu, navikavanje ekstenzivno gajene mesečne mlađi na koncentrovanu hranu, kao i početni odgoj u RAS-u mlađi pripremljene za intenzivan uzgoj. Dobijenim rezultatima, njihovim diskutovanjem i opisima korišćene metodologije, ova disertacija nudi ključne podatke za početak uspostavljanja proizvodnje mlađi smuđa, tehnologije koja još nije našla svoju nišu u akvakulturi Srbije, uprkos postojanju tržišta. Stoga, najvažniji ishod ove disertacije jeste dostupnost podataka o intenzivnom uzgoju mlađi smuđa kolegama ribouzgajivačke prakse zainteresovanim za diverzifikaciju proizvodnje ovom još uvek neprisutnom vrstom u intenzivnom uzgoju ribe u Srbiji. Na kraju, ova pionirska istraživanja, iako obavljena van teritorije Srbije, predstavljaju potreban osnov za početak istraživanja i unutar njenih granica.

7. LITERATURA

Abdulfatah, A., Fontaine, P., Kestemont, P., Gardeur, J. N., Marie, M. (2011): Effects of photothermal kinetics and amplitude of photoperiod decrease on the induction of the reproduction cycle in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 322: 169-176.

Abdulfatah, A., Fontaine, P., Kestemont, P., Milla, S., Marie, M. (2013): Effects of the thermal threshold and the timing of temperature reduction on the initiation and course of oocyte development in cultured female of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 376: 90-96.

Abi-Ayad, A., Kestemont, P. (1994): Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. *Aquaculture* 128: 163-176.

Ackman, R.G., Sipos, J.C.(1964a): Application of specific response factors in the gas chromatographic analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionisation detectors. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 41: 377-378.

Ackman, R.G., Sipos, J.C.(1964b): Flame ionisation detector response for the carbonyl carbon atom in the carboxyl group of fatty acids and esters. *Journal of Chromatography A* 16: 298-305.

Ali, M.A., Ryder, R.A., Ancil, M. (1977): Photoreceptors and visual pigments as related to behavioral responses and preferred habitats of perches (*Perca* spp.) and pikeperches (*Stizostedion* spp.). *Journal of the Fisheries Board of Canada* 34: 1475-1480.

Antalfi, A. (1979): Propagation and rearing of pikeperch in pond culture. *EIFAC Tech Paper* 35: 120-125.

Badiola, M., Mendiola, D., Bostock, J. (2012): Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering* 51: 26-35.

Balon, E.K. (1984): Reflections on some decisive events in the early life of fishes. *Transactions of the American Fisheries Society* 113: 178-85.

Baras, E., Jobling, M. (2002): Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish. *Aquaculture Research*, 33: 461-479.

Bell, J.G., Farndale, B.M., Bruce, M.P., Navas, J.M., Carillo, M. (1997): Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 149: 107-119.

Bilio, M. (2007): Controlled reproduction and domestication in aquaculture – the current state of the art, Part I. *Aquaculture Europe* 32: 5-14.

- Bilio, M. (2008): Controlled reproduction and domestication in aquaculture – the current state of the art, Part IV. *Aquaculture Europe* 33: 12-24.
- Blecha, M., Křišťan, J., Policar, T. (2016): Adaptation of intensively reared pikeperch (*Sander lucioperca*) juveniles to pond culture and subsequent re-adaptation to a recirculation aquaculture system. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 16: 15-18.
- Bojčić, C., Lj, D., Vuković, T., Jovanović-Kršjanin, B., Apostolski, K., Ržaničanin, B., Turk, M., Volk, S., Drecun, Đ., Habeković, D., Hristić, D., Fijan, N., Pažur, K., Bunjevac, I., Marošević, Đ. (1982): *Slatkovodno ribarstvo*. Jugoslavenska medicinska naklada, Zagreb.
- Bódis, M., Kucska, B., Bercsényi, M. (2007): The effect of different diets on the growth and mortality of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in the transition from live food to formulated feed. *Aquaculture International* 15: 83-90.
- Bogut, I., Has-Schön, E., Adámek, Z., Rajković, V., Galović, D. (2007): *Chironomus plumosus* larvae-a suitable nutrient for freshwater farmed fish. *Poljoprivreda* 13: 159-162.
- Bromage, N.R., Mazorra, C., Davie, A., Alorend, E., Bruce, M.P., Bell, J.G., Porter, M. (2001). Optimising broodstock performance: Maturation, fecundity, and gamete quality. In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), *Larvi '01 - Fish and shellfish larviculture symposium*, Ostende, Belgija, p. 87.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, G., Asturiano, J.F., Farndale, B., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Bromage, N. (1999): Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture* 177: 85-97.
- Buijse, A. D., Houthuijzen, R.P. (1992): Piscivory, growth, and size-selective mortality of age 0 pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49: 894-902.
- Cahu, C., Zambonino Infante, J.L. (2001): Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200: 161-180.
- Casselman, S. J., Schulte-Hostedde, A.I., Montgomerie, R. (2006): Sperm quality influences male fertilization success in walleye (*Sander vitreus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63: 2119-2125.
- Cejas, J.R., Almansa, E., Villamandos, J.E., Badía, P., Bolaños, A., Lorenzo, A. (2003): Lipid and fatty acid composition of ovaries from wild fish and ovaries and eggs from captive fish of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture* 216: 299-313.
- Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M.R., Bergot, P., Sorgeloos, P. (1997): Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155: 149-164
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2007): Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270: 1-14.

- Cripps, S. J., Bergheim, A. (2000): Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural engineering* 22: 33-56.
- Czesny, S., Dabrowski, K. (1998): The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquatic Living Resources* 11: 371-378.
- Czesny, S., Dabrowski, K., Christensen, J.E., Van Eenennaam, J., Doroshov, S. (2000): Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acid analysis. *Aquaculture* 189: 145-153.
- Dabrowski, K. (1984): The feeding of fish larvae: present "state of the art" and perspectives. *Reproduction Nutrition Developpement* 24: 807-833.
- Dabrowski, K., Czesny, S., Kolkovski, S., Lynch Jr, W.E., Bajer, P., Culver, D.A. (2000): Intensive culture of walleye larvae produced out of season and during regular season spawning. *North American Journal of Aquaculture* 62: 219-224.
- Dalsgaard, J., Lund, I., Thorarinsdottir, R., Drengstig, A., Arvonen, K., Pedersen, P.B. (2013): Farming different species in RAS in Nordic countries: current status and future perspectives. *Aquacultural engineering* 53: 2-13.
- De Silva, S.S., Nguyen, T.T.T., Turchini, G.M., Amarasinghe, U.S., Abery, N.W. (2009): Alien species in aquaculture and biodiversity: a paradox in food production. *Ambio* 38: 24-28.
- Demska-Zakęś, K., Kowalska, A., Zakęś, Z. (2003): The development of the swim bladder of pikeperch *Sander lucioperca* (L.) reared in intensive culture. *Archives of Polish Fisheries* 11: 45-55.
- Demska-Zakęś, K., Zakęś, Z., Roszuk, J. (2005): The use of tannic acid to remove adhesiveness from pikeperch, *Sander lucioperca*, eggs. *Aquaculture Research*, 36: 1458-1464.
- Diana, J. (2009): Aquaculture production and biodiversity conservation. *BioScience* 59: 27-38.
- Douxfils, J., Mandiki, S.N.M., Marotte, G., Wang, N., Silvestre, F., Milla, S., Henrotte, M., Vandecan, C., Rougeot, C., Méléard, P., Kestemont, P. (2011): Does domestication process affect stress response in juvenile Eurasian perch *Perca fluviatilis*?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 159: 92-99.
- Dörner, H., Hülsmann, S., Hölker, F., Skov, C., Wagner, A. (2007): Size-dependent predator-prey relationships between pikeperch and their prey fish. *Ecology of Freshwater Fish* 16: 307-314.

- Eding, E.H., Kamstra, A., Verreth, J.A.J., Huisman, E.A., Klapwijk, A. (2006): Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: a review. *Aquacultural engineering* 34: 234-260.
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. (2006): Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257: 346-358.
- Estevez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G., Sargent, J.R. (1999): Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot larvae fed live-prey enriched in arachidonic (ARA) and eicosapentaenoic (EPA) acids. *Aquaculture* 180: 321-343.
- FAO. (2010): Sander *Lucioperca*, Species Fact Sheets, Fisheries and Aquaculture Department, FAO. <http://www.fao.org/fishery/species/3098/en>
- FAO. (2012-2017): Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sander lucioperca*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Zakeś, Z. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online].
- FAO. (2016): The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. [online].
- Fernandes, P., Pedersen, L. F., Pedersen, P. B. (2015): Microscreen effects on water quality in replicated recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 65: 17-26.
- Folch, J., Lee, M., Sloane Stanley, G. H. (1957): A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Fontaine, P., Legendre, M., Vandeputte, M., Fostier, A. (2009): Domestication of new species and sustainable development in fish culture. *Cahiers Agricultures* 18: 119-124.
- Fontaine, P., Wang, N., Hermelink, B. (2015). Broodstock Management and Control of the Reproductive Cycle. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C., (Eds.), *Biology and Culture of Percid Fishes*. Springer, Netherlands, pp. 103-122.
- Geurden, I., Radünz-Neto, J., Bergot, P. (1995): Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 131: 303-314.
- Gjedrem, T. (2000): Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Research* 31: 25–33.
- Gjedrem, T., Baranski, M. (2009): *Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction*. Springer, London.
- Grigorakis, K., Alexis, M.N., Taylor, K.D., Hole, M. (2002): Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology* 37: 477-484.

- Hamza, N., Mhetli, M., Kestemont, P. (2007): Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 33: 121-133.
- Hamza, N., Mhetli, M., Khemis, I.B., Cahu, C., Kestemont, P. (2008): Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 275: 274-282.
- Hansson, S., Arrhenius, F., Nellbring, S. (1997): Diet and growth of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.) in a Baltic Sea area. *Fisheries Research* 31: 163-167.
- Hardie, L. J., Fletcher, T. C., Secombes, C. J. (1991): The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 95: 201-214.
- Harrell, R.M., Woods, L.C. (1995). Comparative fatty acid composition of eggs from domesticated and wild striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture* 133: 225-233.
- Henrotte, E., Mandiki, R.S., Prudencio, A.T., Vandecan, M., Mélard, C. Kestemont, P. (2010a). Egg and larval quality, and egg fatty acid composition of Eurasian perch breeders (*Perca fluviatilis*) fed different dietary DHA/EPA/AA ratios. *Aquaculture Research* 41: 53-61.
- Henrotte, E., Kaspar, V., Rodina, M., Psenicka, M., Linhart, O. Kestemont, P. (2010b): Dietary n-3/n-6 ratio affects the biochemical composition of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) semen but not indicators of sperm quality. *Aquaculture Research* 41: 31-38.
- Hermelink, B., Wuertz, S., Trubiroha, A., Rennert, B., Kloas, W., Schulz, C. (2011): Influence of temperature on puberty and maturation of pikeperch, *Sander lucioperca*. *General and comparative endocrinology* 172: 282-292.
- Hermelink, B., Wuertz, S., Rennert, B., Kloas, W. Schulz, C. (2013): Temperature control of pikeperch (*Sander lucioperca*) maturation in recirculating aquaculture systems—induction of puberty and course of gametogenesis. *Aquaculture* 400: 36-45.
- Hermelink, B., Kleiner, W., Schulz, C., Kloas, W., Wuertz, S. (in press): Photo-thermal manipulation for the reproductive management of pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture International*.
- Hilborn, R., Quinn, T.P., Schindler, D.E., Rogers, D.E. (2003): Biocomplexity and fisheries sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 6564-6568.
- Hilge, V., Steffens, W. (1996): Aquaculture of fry and fingerling of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) - a short review. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 167-170.
- Holt, G.J. (1993): Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *Journal of World Aquaculture Society* 24: 225-230.

Horváth, L., Tamás, G., Tölg, I. (1984): Special methods in pond fish husbandry. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.

Horváth, Z., Németh, S., Beliczky, G., Felföldi, Z., Bercsényi, M. (2013): Comparison of efficiencies of using trainer fish and shape or taste modified feed for enhancing direct weaning of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) yearlings on dry feed. Croatian Journal of Fisheries 71: 151-158.

Howey, R.G., Theis, G.L., Haines, P.B. (1980): Intensive culture of the Walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*). U. S. Fish and Wildlife Service, Lamar, Pennsylvania, USA.

Huntingford, F.A. 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. Journal of Fish Biology 65: 122-142.

Jankowska, B., Zakes, Z., Zmijewski, T., Szczepkowski, M. (2003): Fatty acid profile and meat utility of wild and cultured zander, *Sander lucioperca* (L.). Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 6: 02.

<http://www.ejapu.media.pl/series/volume6/issue1/fisheries/art-02.html>.

Kaluzny, M.A., Duncan, L.A., Merritt, M.V., Epps, D.E. (1985): Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns. Journal of Lipid Research 26: 135-140.

Kamler, E. (2005): Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: An energetics perspective. Reviews in Fish Biology and Fisheries 15: 399-421.

Kamler, E., Wolnicki, J., Kamiński, R., Sikorska, J. (2008): Fatty acid composition, growth and morphological deformities in juvenile cyprinid, *Scardinius erythrophthalmus* fed formulated diet supplemented with natural food. Aquaculture 278: 69-76.

Kanazawa, A., Koshio, S., Teshima, S.I. (1989): Growth and survival of larval red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed microbound diets. Journal of World Aquaculture Society 20: 31-37.

Keskinen, T., Pääkkönen, J.P.J., Lilja, J., Marjomäki, T.J., Karjalainen, J. (2005): Homing behaviour of pikeperch (*Sander lucioperca*) following experimental transplantation. Boreal Environment Research 10: 119-124.

Kestemont, P., Mélard, C., Fiogbe, E., Vlavourou, R., Masson, G. (1996): Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Journal of Applied Ichthyology 12: 157-165.

Kestemont P., Mélard, C. (2000): Aquaculture. In: Craig, J.F. (Ed.), Percid fishes: Systematics, ecology and exploitation. London: Blackwell, Velika Britanija, pp. 191-224.

Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., Toko, I.I. (2007): Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. Aquaculture 264: 197-204.

- Khémis, I.B., Hamza, N., Messaoud, N.B., Rached, S.B., M'Hetli, M. (2014): Comparative study of pikeperch *Sander lucioperca* (Percidae; Linnaeus, 1758) eggs and larvae from wild females or from captive females fed chopped marine fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 40: 375-384.
- Khendek, A., Alix, M., Viot, S., Ledoré, Y., Rousseau, C., Mandiki, R., Kestemont, P., Policar, T., Fontaine, P., Milla, S. (2017). How does a domestication process modulate oogenesis and reproduction performance in Eurasian perch?. *Aquaculture* 473: 206-214.
- Koed, A., Mejlhede, P., Balleby, K., Aarestrup, K. (2000): Annual movement and migration of adult pikeperch in a lowland river. *Journal of Fish Biology* 57: 1266-1279.
- Kolkovski, S., Arieli, A., Tandler, A. (1997a): Visual and chemical cues stimulate microdiet ingestion in gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. *Aquaculture International* 5: 527–536.
- Kolkovski, S., Koven, W.M., Tandler, A. (1997b): The mode of action of Artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 155: 193-205.
- Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., Cihla, F., Mahan, D., Dabrowski, K. (2000): The effect of vitamins C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched Artemia nauplii on growth, survival, and stress resistance of fresh water walleye *Stizostedion vitreum* larvae. *Aquaculture Nutrition* 6: 199-206.
- Kowalska, A., Zakęś, Z., Demska-Zakęś, K. (2006): The impact of feeding on the results of rearing larval pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), with regard to the development of the digestive tract. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Fisheries* 9.
- Kowalska A., Zakęś Z., Jankowska B., Demska- Zakęś K. (2011): Effect of different dietary lipid levels on growth performance, slaughter yield, chemical composition, and histology of liver and intestine of pikeperch, *Sander lucioperca*. *Czech Journal of Animal Sciences* 56: 136-149.
- Kozłowski, M., Zakęś, Z., Szczepkowski, M., Wunderlich, K., Piotrowska, I., Szczepkowska, B. (2010): Impact of light intensity on the results of rearing juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), in recirculating aquaculture systems. *Archives of Polish Fisheries* 18: 77-84.
- Krise, W.F., Meade, J.W. (1986): Review of the intensive culture of walleye fry. *Progressive Fish-Culturist* 48: 81-89.
- Křišťan, J., Stejskal, V., Policar, T. (2012): Comparison of reproduction characteristics and broodstock mortality in farmed and wild eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) females during spawning season under controlled conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12: 191-197.
- Křišťan, J., Stara, A., Turek, J., Policar, T., Velisek, J. (2012): Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Neuroendocrinology Letters* 33: 66-71.

Křišť'an, J., Blecha, M., Policar, T. (2015): Alcalase treatment for elimination of stickiness in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) eggs under controlled conditions. *Aquaculture Research in press*.

Kubitza, F., Lovshin, L.L. (1999): Formulated diets, feeding strategies and cannibalism during intensive culture of juvenile carnivorous fishes. *Reviews in Fisheries Science* 7: 1-22.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Murmurz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E. (1996): Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L. using carp pituitary extract and HCG. *Aquaculture Research* 27: 847-852.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E. (1998): Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using FSH+ LH with pimozide or metoclopramide. *Aquaculture Research* 29: 131-136.

Kucharczyk, D., Kestemont, P., Mamcarz, A. (2007): Artificial reproduction of pikeperch. *Mercurius, Olsztyn*.

Kuipers, K. L., Summerfelt, R. C. (1994): Converting pond-reared walleye fingerlings to formulated feeds: effects of diet, temperature, and stocking density. *Journal of Applied Aquaculture* 4: 31-58.

Kupren, K., Trąbska, I., Źarski, D., Krejszeff, S., Palińska-Źarska, K., Kucharczyk, D. (2014): Early development and allometric growth patterns in burbot *Lota lota* L. *Aquaculture International* 22: 29-39.

Langdon, C. 2003: Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture* 227: 259-275.

Lappalainen, J., Dörner, H., Wysujack, K. (2003): Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.))—a review. *Ecology of Freshwater Fish* 12: 95-106.

Lauff, M., Hofer, R. (1984): Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture* 37: 335-346.

Lehtonen, H., Toivonen, J. (1988): Migration of pike-perch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in different coastal waters in Baltic Sea. *Finnish Fisheries Research*. 7: 24-30.

Lehtonen, H., Hansson, S., Winkler, H. (1996): Biology and exploitation of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in the Baltic Sea area. *Annales Zoologici Fennici* 33: 525-535.

Ljubobratović, U., Kucska, B., Feledi, T., Poleksić, V., Marković, Z., Lenhardt, M., Péteri, A., Kumar, S., Rónyai, A. (2015a): Effect of weaning strategies on growth and survival of pikeperch, *Sander lucioperca*, larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15: 327-333.

Ljubobratović, U., Peter, G., Horváth, Z., Balogh, E., Lengyel, S., Kovács, G., & Rónyai, A. (2015b). Intensive rearing performance of three pikeperch (*Sander lucioperca*) populations

from Hungary. In Poleksić, V., Marković, Z. (Eds.), Proceedings of the VIIth international conference "Water and fish". Belgrade-Zemun, Serbia, pp. 350-355.

Ljubobratović, U., Kucska, B., Sándor Z., Péteri A., Rónyai A. (2016): Effects of stocking density, feeding technique and vitamin C supplementation on the habituation on dry feed of pikeperch (*Sander lucioperca*) pond reared juveniles. Iranian Journal of Fisheries Sciences 15: 1337-1347.

Ljubobratović, U., Csengeri, I., Kucska, B., Balogh, E., Lengyel, S., Kovács, Gy., Adorjan, A., Feledi, T., Janurik, E., Rónyai, A. (2017): Comparison of the procedures for adhesiveness removal in pikeperch (*Sander lucioperca*) eggs with special emphasis on the effect of tannic acid. Turkish Journal of Fisheries and Reproduction 17: 461-469.

Losordo, T.M., Westerman, P.W. (1994): An analysis of biological, economic, and engineering factors affecting the cost of fish production in recirculating aquaculture systems. Journal of the World Aquaculture Society 25: 193-203.

Luchiari, A.C., De Morais Freire, F.A., Koskela, J., Pirhonen, J. (2006): Light intensity preference of juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture research 37: 1572-1577.

Luchiari, A.C., De Morais Freire, F.A., Pirhonen, J., Koskela, J. (2009): Longer wavelengths of light improve the growth, intake and feed efficiency of individually reared juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture Research 40: 880-886.

Mairesse, G., Thomas, M., Gardeur, J.N., Brun-Bellut, J. (2007): Effects of dietary factors, stocking biomass and domestication on the nutritional and technological quality of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture 262: 86-94.

Mani-Ponset, L., Diaz, J.P., Schlumberger, O., Connes, R. (1994): Development of yolk complex, liver and anterior intestine in pike perch larvae, *Stizostedion lucioperca* (Percidae), according to the first diet during rearing. Aquatic Living Resources 7: 191-202.

Marković, Z. (2010): Šaran, Gajenje u ribnjacima i kaveznim sistemima. Prof. dr Zoran Marković.

Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C., Heinsbroek, L.T., Schneider, O., Blancheton, J.P., Roque d'Orbcastel, E., Verreth, J.A.J. (2010): New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. Aquacultural Engineering 43: 83-93.

Masser, M.P., Rakocy, J., Losordo, T.M. (1999): Recirculating aquaculture tank production systems: Management of recirculating systems. SRAC Publication, 452.

Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J., Papanikos, N., Porter, M., Bromage, N. (2003). Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 227: 21-33.

- McEvoy, L.A., Estevez, A., Bell, J.G., Shields, R.J., Gara, B., Sargent, J.R. (1998): The influence of dietary levels of eicosapentaenoic and arachidonic acids on the pigmentation success of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada* 4: 17-20.
- Mélard, C., Kestemont, P., Grignard, J.C. (1996): Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. fluviatilis*): effect of major biotic and abiotic factors on growth. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 175-180.
- Mesa, M.G. (1991): Variation in feeding, aggression, and position choice between hatchery and wild cutthroat trout in an artificial stream. *Transactions of the American Fisheries Society* 120: 723-727.
- M'Hetli, M., Ben Khemis, I., Hamza, N., Turki, B., Turki, O. (2011): Allometric growth and reproductive biology traits of pikeperch *Sander lucioperca* at the southern edge of its range. *Journal of fish biology* 78: 567-579.
- Migaud, H., Fontaine, P., Sulisty, I., Kestemont, P., Gardeur, J.N. (2002): Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: effects of rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning. *Aquaculture* 205: 253-267.
- Millot, S., Péan, S., Leguay, D., Vergnet, A., Chatain, B., Bégout, M.L. (2010): Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): a self-feeding approach under repeated acute stress. *Aquaculture* 306: 211-217.
- Mitrovich, V. (2013): Burbot – a new candidate for freshwater aquaculture. *Hatchery International* July-August: 32-33.
- Molnar, T., Hancz, C., Molnar, M., Horn, P. (2004): The effects of diet and stocking density on the growth and behaviour of pond pre-reared pikeperch under intensive conditions. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 105-109.
- Müller-Belecke, A., Zienert, S. (2008): Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. *Aquaculture Research* 39: 1279-1285.
- Nayak, S.K., Swain, P., Mukherjee, S.C. (2007): Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). *Fish & shellfish immunology* 23: 892-896.
- Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Czumińska, K., Olech, W., Olejniczak, M. (2005): Rearing of pike-perch larvae using formulated diets—first success with starter feeds. *Aquaculture research* 36: 1167-1176.
- Palińska-Żarska, K., Żarski, D., Krejszef, S., Nowosad, J., Biłas, M., Trejchel, K., A. Brylewski, A., Targońska, K., Kucharczyk, D. (2014a): The effect of age, size and digestive

tract development on burbot, *Lota lota* (L.), larvae weaning effectiveness. *Aquaculture Nutrition* 20: 281-290.

Palińska-Żarska, K., Żarski, D., Krejszeff, S., Nowosad, J., Biłas, M., Trejchel, K., & Kucharczyk, D. (2014b): Dynamics of yolk sac and oil droplet utilization and behavioural aspects of swim bladder inflation in burbot, *Lota lota* L., larvae during the first days of life, under laboratory conditions. *Aquaculture International* 22: 13-27.

Papp, Gy. Zs, Saroglia, M., Terova, G. (1998): An improved method for assay of Vitamin C in fish feed and tissues. *Chromatographia* 48: 43-47.

Paragamian, V.L., Willis, D.W. (2000): Burbot: biology, ecology, and management. Fisheries Management Section of the American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA.

Pauly, D., Christensen, V., Guénette, S., Pitcher, T. J., Sumaila, U. R., Walters, C. J., Watson, R., Zeller, D. (2002): Towards sustainability in world fisheries. *Nature* 418: 689-695.

Person Le Ruyet, J., Alexandre J.C., Thebaud L, Mugnier, C. (1993): Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?. *Journal of World Aquaculture Society* 24: 211–224.

Policar, T., Křišťan, J., Bláha, M., Stejskal, V. (2012) Juvenile production in pikeperch for ongrowing culture. AQUA 2012, September 1 – 5, Prague, Czech Republic.

Policar, T., Stejskal, V., Kristan, J., Podhorec, P., Svinger, V. Blaha, M. (2013a): The effect of fish size and stocking density on the weaning success of pond-cultured pikeperch *Sander lucioperca* L. juveniles. *Aquaculture International* 21: 869-882.

Policar, T., Blecha, M., Kristan, J., Stejskal, V., Blaha, M. (2013b): Combination of intensive and extensive aquaculture for juvenile pikeperch production (*Sander lucioperca*). European Percid Fish Culture (EPFC) workshop, “Percid fish culture in Nordic countries”, August 9, Trondheim, Norway.

Policar, T., Blecha, M., Křišťan, J., Mráz, J., Velíšek, J., Stará, A., Stejskal, V., Malinovskyi, O., Svačina, P., Samarin, A. M. (2016). Comparison of production efficiency and quality of differently cultured pikeperch (*Sander lucioperca* L.) juveniles as a valuable product for ongrowing culture. *Aquaculture International* 24: 1607–1626.

Popova, O.A., Sytina, L.A. (1977): Food and feeding relations of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in various waters of the USSR. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 34: 1559-1570.

Pourhosein Saramah, S., Falahatkar, B., Takami, G.A., Efatpanah, I. (2012): Effects of different photoperiods and handling stress on spawning and reproductive performance of pikeperch *Sander lucioperca*. *Animal Reproduction Science* 132: 213-222.

Pourhosein Saramah, S., Falahatkar, B., Takami, G.A., Efatpanah, I. (2013): Physiological changes in male and female pikeperch *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) subjected to

different photoperiods and handling stress during the reproductive season. *Fish physiology and biochemistry* 39: 1253-1266.

Qian, G. (2002): Multinationality, product diversification, and profitability of emerging US small-and medium-sized enterprises. *Journal of Business Venturing* 17: 611-633.

Rasband, W.S. (1997–2011): ImageJ. U. S. National Institutes of Health. Bethesda, Meryland, USA.

Rinchard, J., Dabrowski, K., Van Tassell, J.J., Stein, R.A. (2005): Optimization of fertilization success in *Sander vitreus* is influenced by the sperm: egg ratio and ova storage. *Journal of Fish Biology* 67: 1157-1161.

Robinson, B.W., Doyle, R.W. (1990): Phenotypic correlations among behaviour and growth variables in tilapia: implications for domestication selection. *Aquaculture* 85: 177-186.

Rónyai, A. (2007): Induced out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of pike perch (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture Research* 38: 1144-1151.

Rónyai, A., Csengeri, I. (2008): Effect of feeding regime and temperature on ongrowing results of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture Research* 39: 820-827.

Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., Lygren, E. (2006): Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural engineering* 34: 322-331.

Ruuhijärvi, J., Hyvärinen, P. (1996): The status of pike-perch culture in Finland. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 185-188.

Ruzzante, D.E., Doyle, R.W. (1991): Rapid behavioral changes in medaka (*Oryzias latipes*) caused by selection for competitive and noncompetitive growth. *Evolution*: 1936-1946.

Ruzzante, D.E. 1994. Domestication effects on aggressive and schooling behaviour in fish. *Aquaculture* 120:1-24.

Sammouth, S., d'Orbcastel, E.R., Gasset, E., Lemarié, G., Breuil, G., Marino, G., Jean Luc., Coeurdacier, J.L., Fivelstad, S., Blancheton, J.P. (2009): The effect of density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) performance in a tank-based recirculating system. *Aquacultural Engineering* 40: 72-78.

Sargent, J.R. (1995): Origins and functions of egg lipids: Nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, Oksford, Engleska, pp. 353-372.

Sargent J.R., Tocher, D.R., Bell J.G. (2002): The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish nutrition*. Academic Press, San Diego, pp. 181-257.

Sarosiek, B., Dryl, K., Krejszeff, S., Żarski, D. (2016): Characterization of pikeperch (*Sander lucioperca*) milt collected with a syringe and a catheter. *Aquaculture* 450: 14-16.

- Schreier, H. J., Mirzoyan, N., Saito, K. (2010): Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Current opinion in biotechnology* 21: 318-325.
- Schaerlinger, B., Źarski, D. (2015): Evaluation and improvements of egg and larval quality in Percid fishes. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds.), *Biology and culture of percid fishes*. Springer, Netherlands, pp. 193-223.
- Schlumberger, O., Proteau, J.P. (1996): Reproduction of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 149-152.
- Shiri Harzevili, A., Charleroy, D., Auwerx, J., Vught, I., Slycken, J., Dhert, P., Sorgeloos, P. (2003). Larval rearing of burbot (*Lota lota* L.) using *Brachionus calyciflorus* rotifer as starter food. *Journal of Applied Ichthyology* 19: 84-87
- Szczerbowski, A., Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Łuczyński, M., Targońska, K., Kujawa, R. (2009): Artificial off-season spawning of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. *Archives of Polish Fisheries* 17: 95-98.
- Sharrer, M.J., Summerfelt, S.T. (2007): Ozonation followed by ultraviolet irradiation provides effective bacteria inactivation in a freshwater recirculating system. *Aquacultural Engineering* 37: 180-191.
- Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S. (2001): Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocyte maturation in a marine teleost, the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction* 64: 382-389.
- Steenfeldt, S. (2015): Culture Methods of Pikeperch Early Life Stages. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds.), *Biology and culture of percid fishes*. Springer, Netherlands, pp. 295-312.
- Steenfeldt, S., Fontaine, P., Overton, J.L., Policar, T., Toner, D., Falahatkar, B., Falahatkar, B., Horváth, Á., Ben Khemis, I, Hamza, N., Mhetli, M. (2015): Current Status of Eurasian Percid Fishes Aquaculture. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds.), *Biology and culture of percid fishes*. Springer, Netherlands, pp. 817-841.
- Stejskal, V., Matoušek, J., Drozd, B., Blaha, M., Policar, T., Kouřil, J. (2012): The effect of long-term hyperoxia and hypoxia on growth in pikeperch (*Sander lucioperca*). *AQUA 2012*, September 1 – 5, Prague, Czech Republic.
- Stepien, C.A., Haponski, A.E. (2015): Taxonomy, distribution, and evolution of the Percidae. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds.), *Biology and Culture of Percid Fishes*. Springer, Netherlands. pp. 3-60.
- Stoffel, W., Chu, F., Ahrens, E.H. (1959): Analysis of long-chain fatty acids by gas-liquid chromatography - Micromethod for preparation of methyl esters. *Analytical Chemistry* 31: 307-308.

- Summerfelt, R.C. (1996): Intensive culture of walleye fry. In: Summerfelt, R.C. (Ed.), The walleye culture manual, NCRAC Culture Series 101. Publication Office Iowa State University, Ames, Iowa, pp. 161-185.
- Summerfelt, R.C., Johnson, J.A. Clouse, C.P. (2011): Culture of walleye, sauger, and hybrid walleye. In: Barton, B. (Ed.), Biology, management, and culture of walleye, sauger, and hybrid walleye. American Fisheries Society Special Publication, Bethesda, Maryland, pp. 451-570.
- Summerfelt, R.C. (2013): Gas bladder inflation in larval fish aquaculture. In: Qin., J. Q. (Ed.), Larval fish aquaculture. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York, pp. 125-142.
- Swain, D.P., Riddell, B.E. (1990): Variation in agonistic behavior between newly emerged juveniles from hatchery and wild populations of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 47: 566-571.
- Szczepkowski, M., Zakęś, Z., Szczepkowska, B., Piotrowska, I. (2011): Effect of size sorting on the survival, growth and cannibalism in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) larvae during intensive culture in RAS. Czech Journal of Animal Science 56: 483-489.
- Szkudlarek, M., Zakęś, Z. (2002): The effect of stock density on the effectiveness of rearing pikeperch *Sander lucioperca* (L.) summer fry. Archives of Polish Fisheries 10: 115-119.
- Szkudlarek, M., Zakęś Z. (2007): Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions. Aquaculture International 15: 67-81.
- Teletchea, F., Fontaine, P. (2014): Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. Fish and Fisheries 15:181-195.
- Tielmann, M., Schulz, C., Meyer, S. (2016): Self-grading of larval pike-perch (*Sander lucioperca*), triggered by positive phototaxis. Aquacultural Engineering 72: 13-19.
- Trejchel, K., Źarski, D., Palińska-Źarska, K., Krejszeff, S., Dryl, B., Dakowski, K. Kucharczyk, D. (2014): Determination of the optimal feeding rate and light regime conditions in juvenile burbot, *Lota lota* (L.), under intensive aquaculture. Aquaculture international, 22: 195-203.
- Tocher, D.R. (2003): Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Reviews in Fisheries Science 11: 107-184.
- Tocher, D.R. (2010): Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. Aquaculture Research 41: 717-732.
- Van Kessel, M.A., Harhangi, H.R., Van de Pas-Schoonen, K., Van de Vossenber, J., Flik, G., Jetten, M.S., Klaren, P.H.M., den Camp, H.J.O. (2010): Biodiversity of N-cycle bacteria in nitrogen removing moving bed biofilters for freshwater recirculating aquaculture systems. Aquaculture 306: 177-184.

- Van Rijn, J., Tal, Y., Schreier, H.J. (2006): Denitrification in recirculating systems: theory and applications. *Aquacultural engineering* 34: 364-376.
- Verreth, J., Kleyn, K. (1987): The effect of biomanipulation of the zooplankton on the growth, feeding and survival of pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in nursing ponds. *Journal of Applied Ichthyology* 3: 13-23.
- Vught, I., Harzevilli, A.S., Auwerx, J., De Charleroy, D., Paragamian, V.L., Bennet, D.H. (2008): Aspects of reproduction and larviculture of burbot under hatchery conditions. *American Fisheries Society Symposium* 59: 167-178.
- Wang, N., Xu, X., Kestemont, P. (2009a): Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture* 289: 70-73.
- Wang, N., Mandiki, S.N.M., Henrotte, E., Bouyahia, A.G., Mairesse, G., Rougeot, C., Melard, C., Kestemont, P. (2009b): Effect of partial or total replacement of forage fish by a dry diet on the quality of reproduction in pikeperch, *Sander lucioperca*. *Aquaculture Research* 40: 376-383.
- Willey, S., Bengtson, D.A., Harel, M. (2001): Arachidonic acid requirements for larval summer flounder (*Paraalichthys dentatus*). In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), *Larvi '01 - Fish and shellfish larviculture symposium*. Ostende, Belgija, pp. 634-637.
- Zakęś, Z., & Demska-Zakęś, K. (1996): Effect of diets on growth and reproductive development of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), reared under intensive culture conditions. *Aquaculture Research* 27: 841-845.
- Zakęś, Z., Szczepkowski, M. (2004): Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture International* 12: 11-18.
- Zakęś, Z., Kowalska, A., Czerniak, S., Demska-Zakęś, K. (2006): Effect of feeding frequency on growth and size variation in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Czech Journal of Anim Science* 51: 85-91.
- Zakęś, Z. (2007): Out-of-season spawning of cultured pikeperch [*Sander lucioperca* (L.)]. *Aquaculture research* 38: 1419-1427.
- Zakęś, Z., Demska-Zakęś, K. (2009): Controlled reproduction of pikeperch *Sander lucioperca* (L.): a review. *Archives of Polish Fisheries* 17: 153-170.
- Zakęś, Z., Szczepkowski, M., Partyka, K., Wunderlich, K. (2013a): Effect of gonadotropin hormonal stimulation on out-of-season propagation success of different year classes of indoor-reared pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquaculture International* 21: 801-810.

Zakęś, Z., Hopko, M. (2013b): Tagging juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) in the cheek with Passive Integrated Transponders (PIT) - impact on rearing indexes and tag retention. Archives of Polish Fisheries 21: 243-248.

Żarski, D., Kucharczyk, D., Sasinowski, W., Targońska, K., Mamcarz, A. (2010): The influence of temperature on successful reproductions of Burbot, *Lota lota* (L.) under hatchery conditions. Polish Journal of Natural Sciences, 25(1), 93-105.

Żarski, D., Palińska, K., Targońska, K., Bokor, Z., Kotrik, L., Krejszeff, S., Kupren, K., Horváth, A., Urbányi, B., Kucharczyk, D. (2011): Oocyte quality indicators in Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L., during reproduction under controlled conditions. Aquaculture 313: 84-91.

Żarski, D., Kucharczyk, D., Targońska, K., Palińska, K., Kupren, K., Fontaine, P., Kestemont, P. (2012a): A new classification of pre-ovulatory oocyte maturation stages in pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), and its application during artificial reproduction. Aquaculture Research 43: 713-721.

Żarski, D., Krejszeff, S., Palińska, K., Targońska, K., Kupren, K., Fontaine, P., Kestemont, P., Kucharczyk, D. (2012b): Cortical reaction as an egg quality indicator in artificial reproduction of pikeperch, *Sander lucioperca*. Reproduction, Fertility and Development 24: 843-850.

Żarski, D., Targońska, K., Kaszubowski, R., Kestemont, P., Fontaine, P., Krejszeff, S., Kupren, K., Kucharczyk, D. (2013): Effect of different commercial spawning agents and thermal regime on the effectiveness of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), reproduction under controlled conditions. Aquaculture International 21: 819-828.

Żarski, D., Horváth, A., Held, J.A., Kucharczyk, D. (2015a). Artificial Reproduction of Percid Fishes. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds.), Biology and culture of percid fishes. Springer, Netherlands, pp. 123-161.

Żarski, D., Krejszeff, S., Kucharczyk, D., Palińska-Żarska, K., Targońska, K., Kupren, K., Fontaine, P., Kestemont, P. (2015b): The application of tannic acid to the elimination of egg stickiness at varied moments of the egg swelling process in pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture Research 46: 324-334.

Żarski, D., Roche, J., Khendek, A., Broquard, C., Milla, S., Fontaine, P. (2016): Can GnRH treatment improve egg quality during the out-of season spawning of domesticated pikeperch (*Sander lucioperca*)?. Aquaculture Europe 2016, Food For Thought, September 20-23, Edinburgh, Scotland.

Żarski, D., Palińska-Żarska, K., Łuczyńska, J., Krejszeff, S. (2017): The type of spawning agent affects the egg composition during out-of-season spawning but not during in-season spawning in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. General and Comparative Endocrinology 245: 19-29.

BIOGRAFIJA

Uroš Rade Ljubobratović rođen je 21. juna 1986. godine u Somboru gde je završio osnovnu školu kao nosilac “Vukove diplome” uz priznanje za najboljeg đaka odeljenja. Gimnaziju “Veljko Petrović” Sombor pohađao je dve godine, da bi poslednje dve godine završio u Gimnaziji “Mladenovac” iz Mladenovca. Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisao 2005. godine na odseku za Zaštitu zemljišta od erozije i uređenje bujičnih tokova. Osnovne studije završio je 24. juna 2010. godine odbranivši diplomski rad pod naslovom “Uticaj stanja sliva na vek trajanja akumulacije Ulog” sa ocenom 10 i prosečnom ocenom u toku studiranja 9,63. Nakon diplomiranja, dobio je priznanje za Najboljeg diplomiranog inženjera odseka Zaštita zemljišta od erozije i uređenje bujičnih tokova u školskoj 2009/10. godini od strane Šumarskog fakulteta i priznanje za Najboljeg studenta Šumarskog fakulteta u školskoj 2009/10. godini od strane Univerziteta u Beogradu.

Doktorske studije upisao je na Poljoprivrednom fakultetu Univerzita u Beogradu u novembru 2011. godine na studijskom programu Zootehnika, oblast Akvakultura, u okviru katedre za Odgajivanje i reprodukciju domaćih i gajenih životinja. U toku 2012. godine pohađao je jednomesečni kurs “Akvakultura – proizvodnja i menadžment 2012” na Fakultetu za poljoprivredu, hranu i okolinu Rober H. Smit u Rehovotu, Univerzitet u Jerusalimu, Izrael. U periodu od 2012. do 2014. godine bio je zaposlen kao istraživač pripravnik na Institutu za multidisciplinarne studije Univerziteta u Beogradu. Od maja 2014. godine zaposlen je kao istraživač saradnik na Insitutu za ribarstvo i akvakulturu NARIC HAKI, Sarvaš, Mađarska, gde u okviru grupe za Sisteme akvakulture radi na unapređenju tehnologije intenzivnog uzgoja smuđa, sa posebnim osvrtom na veštački mrest i kulturu larvi.

Od 2011. do 2014. godine bio je angažovan na projektima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije: “Unapređenje proizvodnih kapaciteta šarana (*Cyprinus carpio* L.) programima ishrane i selekcije” (TR 31075) i “Ribe kao bioindikator stanja kvaliteta otvorenih voda Srbije” (OI 173045). U toku 2014. Godine u okviru EU FP7 projekta “AQUAEXCEL” (262336) predvodio je projekat “Unapređenje mresta smuđa”. U toku 2014. i 2015. godine bio je deo EU FP7 projekta AQUAREDPOOT (316266) sa zadatkom unapređenja tehnologije veštačkog mresta i intenzivnog uzgoja larvi smuđa na institutu NARIC HAKI. Takođe, u istom periodu bio je angažovan u okviru projekta Ministarstva poljoprivrede Republike Mađarske “Unapređenje veštačkog mresta ekonomski bitnih vrsta iz porodice percida (smuđ, bandar) uz poseban osvrt na geografsku distribuciju”. Od 2016.

godine deo je EU H2020 projekta “AQUAEXCEL²⁰²⁰” sa zadatkom ocene parametara stresa prilikom transporta različitih uzrasnih kategorija smuđa iz jezerskog u recirkulacioni sistem i obrnuto. Takođe, u okviru istog projekta, bio je angažovan na projektu “Efekat bakterija mlečne kiseline na nutritivni sastav i kompoziciju mikroflore larvi smuđa (*Sander lucioperca*) u recirkulacionom akvakulturnom sistemu (RAS)”.

Kao vodeći autor do sada je objavio četiri naučna rada u časopisima međunarodnog značaja iz oblasti veštačkog mresta i proizvodnje mlađi smuđa.

Prilog 1.

IZJAVA O AUTORSTVU

Potpisani-a _____ Ljubobratović Uroš _____

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije _____ 11/23 _____

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom:

“Uticaj porekla matica, gustine nasada i načina privikavanja na koncentrovanu hranu na uspeh veštačkog mresta, gajenje larvi i mladi smuđa (*Sander lucioperca* L., 1758)”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena doktorska disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Prilog 2.

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKE DISERTACIJE

Ime i prezime autora _____ Ljubobratović Uroš _____

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije _____ 11/23 _____

Studijski program _____ Poljoprivredne nauke _____

Naslov doktorske disertacije “Uticaj porekla matica, gustine nasada i načina privikavanja na koncentrovanu hranu na uspeh veštačkog mresta, gajenje larvi i mladi smuđa (*Sander lucioperca* L., 1758)”

Mentor _____ dr Zoran Marković, redovni profesor _____

Potpisani/a _____ Ljubobratović Uroš _____

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Prilog 3.

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Uticaj porekla matica, gustine nasada i načina privikavanja na koncentrovanu hranu na uspeh veštačkog mresta, gajenje larvi i mlađi smuđa (*Sander lucioperca* L., 1758)”
koja je moje autorko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na kraju).

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

1. Autorstvo – Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.