

Uzgoj tune (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758.): razvoj zaokruženoga proizvodnog ciklusa



Farming of bluefin tuna (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758): development of a closed cycle production

Ćurić, I.^{1*}, L. Grubišić², K. Matanović³

Sažetak

Današnja tehnologija uzgoja tune (*Thunnus thynnus*) zasniva se na tovu ulovljenog mlađa. Razlog tomu je što do danas nije usavršena tehnologija umjetnog mriještenja i uzgoja mlađa za nasad. U posljednjih dvadesetak godina iz fondova EU financirani su brojni istraživački projekti s ciljem uspostave zaokruženoga proizvodnog ciklusa, od umjetnog mriještenja do stavljanja konzumne tune na tržiste. Opsežna istraživanja fiziologije reprodukcije tune pružila su mogućnost provedbe induciranih mriještenja i prikupljanja oplodene ikre. Istraživanja su bila usmjerena na razumijevanje procesa razvoja testisa i ovarija, utjecaja spolnih hormona na spolno sazrijevanje i uvjeta okoliša koji potiču tune na mriještenje. No gubici u uzgoju ličinaka i mlađa i dalje su visoki. Niska stopa preživljavanja, uzrokovana kanibalizmom, neodgovarajućom hranidbom, stresom i osjetljivošću na uzgojne uvjete, onemogućuje proizvodnju mlađa u količini dostačnoj za ekonomski isplativu proizvodnju.

Abstract

Nowadays, the tuna (*Thunnus thynnus*) farming technology is based on fattening juveniles caught from natural populations. The reason is that the technology of artificial fertilization and rearing of juveniles has not been fully developed yet. In the last twenty years, numerous research projects have been financed from EU funds with the aim of establishing technology for a closed cycle production of tuna, from hatchery to market. Extensive research into the physiology of tuna reproduction provides an opportunity to implement induced spawning and collection of a fertilized egg. The research includes an understanding of testicular and ovarian development processes, the influence of sex hormones on sexual maturation, and environmental conditions that regulate spawning. Losses in larval and juvenile rearing are still high. The low survival rate, caused by cannibalism, inadequate nutrition, stress and sensitivity to breeding conditions prevent the production of juveniles in a quantity sufficient for an economically viable production.

¹Ivan Ćurić, dr. med. vet.

²doc. dr. sc. Leon Grubišić, znanstveni savjetnik, Laboratorij za akvakulturu, Institut za oceanografiju i ribarstvo, 21000 Split

³doc. dr. sc. Krešimir Matanović, Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

*e-adresa: ivan.curic15@gmail.com

Ključne riječi: tuna, *Thunnus thynnus*, inducirano mriještenje, zaokružen proizvodni ciklus

Key words: bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, induced spawning, closed cycle production

UVOD

Današnja tehnologija uzgoja tune (*Thunnus thynnus*) zasniva se na tovu ulovljenog mlađa. Razlog tomu je što do danas nije usavršena tehnologija umjetnog mriještenja te uzgoja ličinaka i mlađa. U posljednjih dvadesetak godina iz fondova EU finansirani su brojni istraživački projekti s ciljem uspostave tehnologije zaokruženoga proizvodnog ciklusa tune, od umjetnog mriještenja do stavljanja konzumne tune na tržiste.

Cilj projekta DOTT (engl. *Domestication of Bluefin tuna Thunnus thynnus*) bio je razvoj strategije zaokruženoga proizvodnog ciklusa tune, nakon čega su započela istraživanja o mogućnosti reprodukcije u kontroliranim uvjetima (engl. *Reproduction of the Bluefin Tuna in Captivity – feasibility study for the domestication of Thunnus thynnus*, REPRODOTT). Uslijedio je projekt uspostave osnovnog protokola uzgoja ličinaka i razvoja zamjenske hrane (engl. *Self-sustaining aquaculture – Domestication of Thunnus thynnus*, SELFDOTT) te naposljetku projekt TRANSDOTT (engl. *Translation of domestication of Thunnus thynnus to a commercial application*), koji je trebao objediniti rezultate prethodnih istraživanja radi uspostave inovativne i tržišno održive marikulture (Ćurić, 2019.). Kao rezultat navedenih projekata uspostavljeno je više privatnih mrijestilišta i istraživačkih centara u Španjolskoj, Malti, Grčkoj,

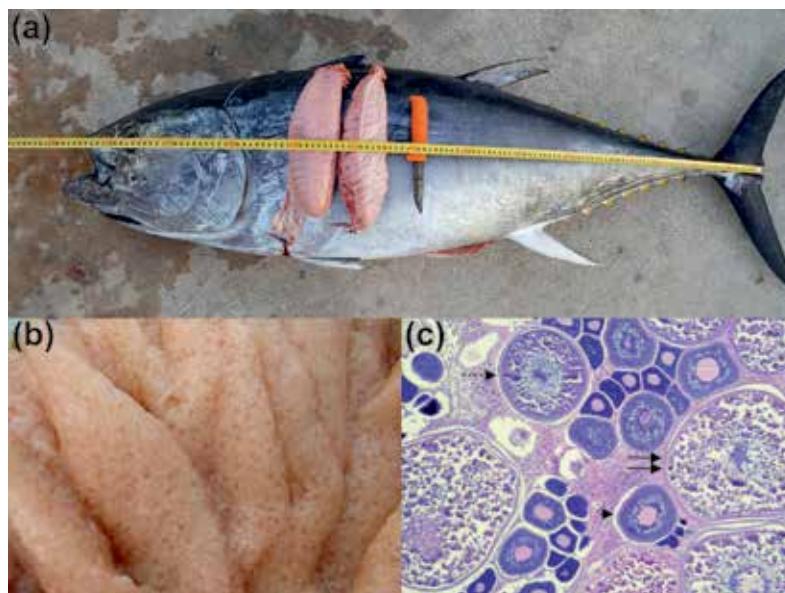
kotorskoj, Egiptu i Turškoj, ili, kao u slučaju Hrvatske, pokušnih kavezova s matičnim jedinkama. Većina njih uspješno je proizvela male količine mlađa, ali unatoč tim uspjesima, brojni su izazovi i dalje prepreka za uzgoj tržišno održive količine tune (Ortega i sur., 2014.; Benetti i sur., 2016.). Razvoj tehnologije umjetnog mriještenja i uzgoja mlađa pruža priliku za održivi uzgoj tune koji nije ograničen kvotama.

Utjecaj kaveznog držanja tune na gametogenezu i endokrini status

Opsežna istraživanja fiziologije reprodukcije tune, provedena na slobodnoživućim i kavezno držanim tunama, omogućila su razumijevanje procesa razvoja testisa i ovarija, utjecaja spolnih hormona na spolno sazrijevanje te određivanje uvjeta okoliša koji potiču tune na mrijest (slika 1). Otprilike je poznato da držanje riba u zaštićeništvu dovodi do poremećaja u reprodukciji. Istraživanja provedena na odraslim tunama izlovljenima u području Balearskih otoka i držanima u kavezu uputila su na pojavu i napredovanje gametogeneze (De La Gándara i sur., 2010.). Razine hormona koji oslobađa gonadotropin (GnRH1) i luteinizacijskog hormona (LH) dosežu vrhunac u lipnju i slične su kao kod slobodnoživućih tuna. To pokazuje da je endokrini sustav kavezno držanih tuna funkcionalan i sposoban pripremiti organizam za nadolazeću sezonu

Slika 1. Ovariji tune. (a) – matica iz kaveznog uzgoja s potpuno zrelim ovarijsima.

(b) – makrofotografija ovarijsa prikazuje jajne stanice različita promjera. Zrele su jajne stanice prozirne. (c) Histološki prikaz ovarijsa. Vidljive su jajne stanice u različitim stadijima razvoja. Puna strelica – perinuklearni stadij; vrh strelice – lipidni stadij; isprekidana strelica – rani vitelogeni stadij; dvostruka strelica – kasni vitelogeni stadij. HE bojenje. (L. Grubišić).



mriješenja. Ipak, gonadosomatski indeks kavezno držanih jedinki znatno je niži nego u slobodnoživućih tuna, a spermatogeneza i oogeniza donekle su narušene (Corriero i sur., 2007.; Corriero i sur., 2009.; Corriero i sur., 2011.; Zupa i sur., 2013.; Benetti i sur., 2016.).

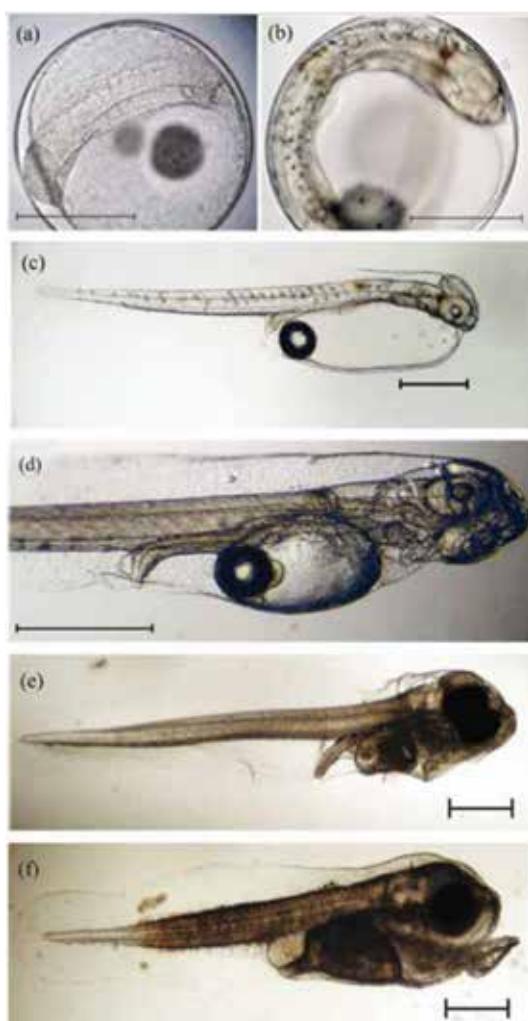
Zupa i suradnici (2013.) utvrdili su da je tijekom svibnja stopa proliferacije spermatogonija kod mužjaka držanih u kavezu veća nego u slobodnoživućih jedinki, a tijekom lipnja je udio spermatogonija i spermatocita u proliferaciji povećan, što upućuje na vremenski pomak u procesu spermatogeneze. Kod jedinki držanih u kavezu zabilježen je i veći udio zametnih stanica u apoptozi, što se dovodi u vezu sa smanjenom razinom muških spolnih hormona, osobito 11-ketotestosterona, glavnog hormona koji potiče spermatogenezu u riba (Zupa i sur., 2013.). Niska razina muških spolnih hormona kod uzgajanih mužjaka vjerojatno je posljedica smanjene sekrecije gonadotropnog hormona, a slična je pojava opisana i kod drugih vrsta riba držanih u zatočeništvu (Zohar, 1989.).

Držanje u zatočeništvu ima još važniji utjecaj na oogenetu. Kod kavezno držanih ženki zabilježena je manja masa gonada, uz narušen proces oogenete i vitelogeneze, što se dovodi u vezu sa stresom kojim su izložene tune u kavezu (Corriero i sur., 2011.).

Unatoč tim negativnim utjecajima kaveznog držanja na reprodukciju uočeno je da neke jedinke tune, nakon višegodišnje prilagodbe na uzgojne uvjete, spontano spolno sazrijevaju i počnu se mrijetiti (Gordoa i sur., 2009.). Tako je 2011. u uzgajalištu smještenom u Jadranskom moru iz uzgojnog kaveza prikupljeno oko 20 000 komada ikre, s postotkom oplodnje od 80 %. Prikupljena ikra premještena je u recirkulacijski sustav na inkubaciju, a nakon valjenja ličinaka i morfološke pretrage (slika 2) te analize kontrolne regije mitochondrialne DNA potvrđeno je da se doista radi o ličinkama tune i da je u kavezima došlo do spontanog mriješenja (Grubišić i sur., 2013.). No u većini slučajeva spontano mriješenje traje kratko (3 – 4 tjedna) i ne pojavljuje se redovito, a količina ikre koja se može prikupiti ne zadovoljava tehnološke potrebe jer se mrijeti samo manji postotak ženki (Masuma i sur., 2008.; Benetti i sur., 2016.).

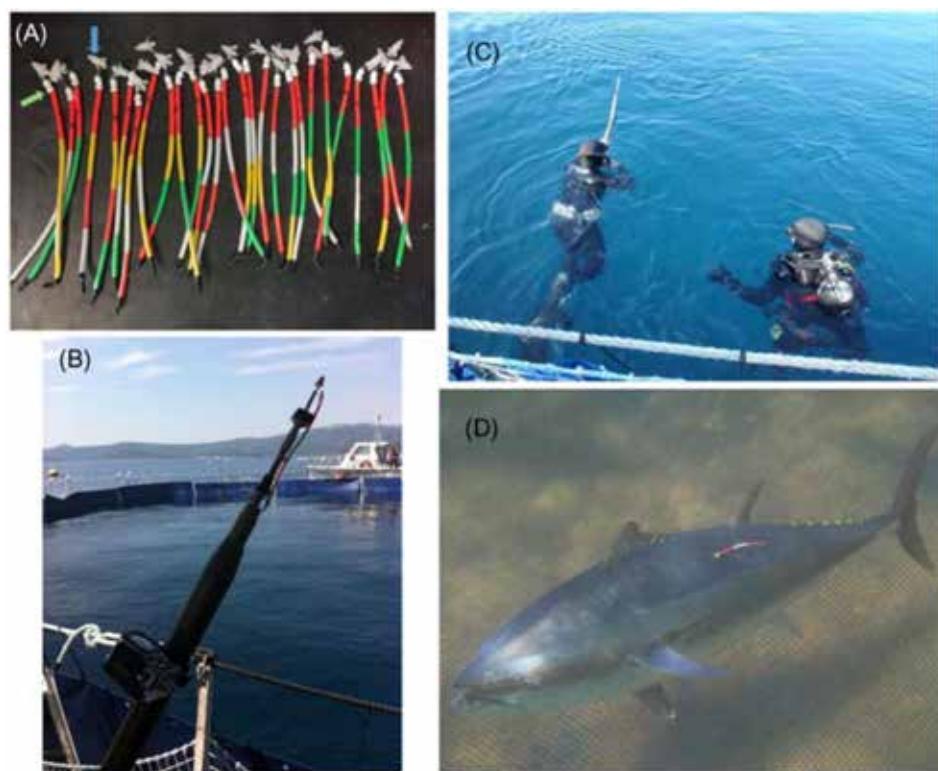
Inducirani mrijest

Poremećaj u reprodukciji, koji se pojavljuje kod kavezno uzgajanih tuna, zabilježen je i kod drugih vrsta riba držanih u zatočeništvu (Zohar, 1989.; Mylonas i sur., 2010.), a može se prevladati egzogenom primjenom GnRH agonista (GnRHa) (Mylonas i sur., 2010.). S ciljem poticanja spolnog sazrijevanja i indukcije mrijesta kod tune razvijen je sustav za aplikaciju implantata s kontroliranim otpuštanjem GnRHa (Mylonas i sur., 2007.). Implantat s vidljivom oznakom ronilac aplicira podvodnom puškom s harpunom (slika 3). GnRHa se otpušta u razdoblju od 2 do 3 tjedna, u ukupnoj dozi od 50 do 75 µg hormona po kilogramu tjelesne mase (Mylonas i sur., 2007.).



Slika 2. Razvoj embrija i ličinke tune. (a) Embrij. (b) Embrij, tri sata prije valjenja. (c) Ličinka sa žumančanom vrećicom, tri sata nakon valjenja. (d) Ličinka, 36 sati nakon valjenja. (e) Ličinka, dva dana nakon valjenja. (f) Ličinka, četiri dana nakon valjenja. Mjerilo 0,5 mm.
Izvor: Grubišić i sur., 2013.

Slika 3. Aplikacija implantata GnRHa. (A) Implantati GnRHa. (B) Implantat GnRHa postavljen na podvodnu pušku. (C) Priprema ronioca za postavljanje implantata GnRHa. (D) Tuna s postavljenim implantatom GnRHa. Izvor: Benetti i sur., 2016.



Aplikacija implantata GnRHa inducira završno sazrijevanje oocita i ovulaciju (Corriero i sur., 2007.). Kod 63 % tretiranih ženki u roku od 2 do 8 dana nakon aplikacije implantata sazrijevanje oocita je završilo (0 % u kontrolnoj skupini), dok su kod čak 88 % utvrđeni postovulacijski folikuli (21 % u kontrolnoj skupini) (Mylonas i sur., 2007.). Kod tretiranih mužjaka zabilježen je veći postotak onih koji su otpuštali mlječe. U Španjolskoj je 2009. pomoću implantata GnRHa uspješno inducirano mriješćenje tune koje je trajalo 17 dana te je prikupljeno ukupno 140 milijuna komada oplodene ikre (Benetti i sur., 2016.). Implantati GnRHa korišteni su i kako bi se sezona mriješćenja kod kavezno držanih tuna u Jadranskom moru produljila. Nakon višekratne aplikacije implantata u razmacima od nekoliko tjedana zabilježeno je više od 30 pojava intenzivnog mriješćenja u sezoni, koja je trajala sve do kraja kolovoza. Dnevno je prikupljeno prosječno 600 000 komada ikre s postotkom oplodnje od 95 %, a nekoliko milijuna komada oplodene ikre transportirano je u SAD i Grčku, gdje su u mrijestilištima uspješno uzgojene ličinke i mladunci (Cinoti i sur., 2017.; Van Beijnen, 2017.).

Uzgoj ličinaka i mlađa tune

Da bi se osigurala proizvodnja mlađa u količini potrebnoj za tržiste, nužno je osigurati stabilnu proizvodnju ikre visoke kvalitete. Štoviše, zbog smanjena postotka preživljavanja ličinaka tune potrebna je razmjerno velika količina ikre da bi se omogućila tržišno isplativa proizvodnja mlađa. Nakon spontanog ili induciranih mriješćenja oplodjena ikra prikuplja se iz kaveza te prenosi u mrijestilište na inkubaciju. Ikra se prikuplja rano ujutro povlačnim planktonskim mrežama (slika 4), a na uspjeh znatno utječe brzina morske struje (Benetti i sur., 2016.).

Inkubacija ikre obavlja se u malim cilindričnim inkubatorima s protokom, pri optimalnoj temperaturi od 22 °C, uz najmanje 100 % otopljenog kisika i pH 7,7. Veći gubici ličinki zabilježeni su pri slanosti od 30 ‰, a manji pri 40 ‰ (Bridges, 2015.). Ličinke se izvale 24 – 36 sati nakon oplodnje. Utjecaj temperature na duljinu inkubacije veći je nego kod drugih vrsta tuna, pa tako do valjenja pri temperaturi od 26 °C dolazi za 23 sata, a pri 19,5 °C za 49 sati (Gordoa i Carreras, 2014.).



Slika 4. Prikupljanje oplodene ikre planktonskom mrežom s površine kaveza u kojem se nalaze matice tune. (L. Grubišić).

Postojeća tehnologija uzgoja ličinaka i mlađa tune daleko je od idealne, a visoka smrtnost i troškovi znatno otežavaju proizvodnju. Smrtnost ličinaka u prvim danima nakon valjenja vjerojatno je, kao i kod pacifičke tune, povezana s poremećajem prilikom prvog punjenja ribljeg mjehura zrakom (Benetti i sur., 2016.). Punjenje ribljeg mjehura zrakom može otežati visoka površinska napetost, nakupljanje masnoće na površini vode ili prebrzo strujanje vode (Van Beijnen, 2017.). Nepravilno napunjeno riblji mjehur onemogućuje kontrolu plovnosti i održavanja položaja u vodenom stupcu (Ina i sur., 2020.). Također, zbog visoke površinske napetosti ličinke prilikom uzimanja zraka mogu ostati zarobljene na dodirnoj površini vode i zraka što dovodi do uginuća (Benetti i sur., 2016.).

Od 5. do 10. dana nakon valjenja jest druga kritična faza koja se očituje povećanjem smrtnosti u vrijeme noćnog mirovanja ličinaka (engl. *sinking death*). Zbog nedostatka svjetla ličinke su noću manje aktivne pa tonu na dno, jer im je specifična gustoća veća od gustoće morske vode. Pri udaranju u dno bazena dolazi do oštećenja peraja i kostura, a ličinke su izložene sedimentu koji sadržava velik broj bakterija (Masuma i sur., 2011.; Van Beijnen, 2017.).

Stopa rasta ličinki tune vrlo je velika i iznosi 30 – 50 % dnevno, što zahtijeva veliku količinu hrane bogate bjelančevinama (Partridge, 2013.). U prirodi ličinke tune ovu potrebu zadovoljavaju hraneći se ličinkama drugih riba (La-

iz-Carrión i sur., 2015.). Izostanak takvog načina hranjenja u uzgoju dovodi do kanibalizma kod ličinaka i mlađa (Bridges, 2015.). Kanibalizam se pojavljuje već u ranoj fazi uzgoja, oko 10. dana nakon valjenja, a gubici u samo nekoliko dana mogu dosegnuti i do 50 % (Van Beijnen, 2017.).

Nakon što ličinke tune prođu metamorfozu, oko 30. dana nakon valjenja, glavni su uzrok smrtnosti mehaničke ozljede nastale zbog udaranja u stijenke bazena (slika 5). Jedinke koje prezive, zbog oštećenja kože podložne su bakterijskim infekcijama od kojih ugibaju u kasnijoj fazi (Higuchi i sur., 2013.). Smatra se da uzrok udaranja u stijenke bazena leži u nepotpunu razvoju živčanog sustava i mrežnice, a može biti i posljedica ubrzana i nekontrolirana plivanja uzrokovanih stresom (Partridge, 2013.).

U kasnijoj fazi uzgoja mlađa glavni je razlog udaranja u stijenke bazena stres. Stres uzrokuje paniku, iznenadno nekontrolirano plivanje i udaranje u stijenke. Nastanak stresa dovodi se u vezu s različitim čimbenicima, primjerice naglom promjenom intenziteta svjetla, bukom i prisutnošću grabežljivih ličinki drugih vrsta riba (Masuma i sur., 2011.; Honryo i sur., 2013.).

Smrtnost koja se pojavljuje prilikom prebacivanja mlađa iz mrijestilišta u kavez može biti veća od 80 % (Honryo i sur., 2013.; Benetti i sur., 2016.). Prebacivanje u novo i nepoznato okruženje uzrokuje stres koji dovodi do znatnih gubitaka zbog namjernog ili slučajnog udara-

nja mlađa u stijenke transportnog spremnika ili u mreže uzgojnih kaveza. Stres uzrokuje i (pre)dugo vrijeme transporta, prisutnost grabežljivih riba, ptica i morskih sisavaca te buka i vibracije nastale zbog kretanja motornih ploviла u neposrednoj blizini uzgojnog kavezа (Van Beijnen, 2017.).

Zaokružen proizvodni ciklus tune

Proizvodni ciklus tune uspješno je zaokružen u istraživanjima provedenima u okviru projekta SELFDOTT, u Španjolskoj. Nakon inkubacije ikre, prikupljene tijekom spontanog mriješćenja tune u kavezу, izvaljene ličinke uzgajane su u bazenima volumena 40 m³ koristeći se tzv. tehnikom pseudozelene vode (engl. *pseudogreen water*), uz prosječan postotak preživljavanja od 0,46 % do 40. dana poslije valjenja. Nakon hranidbe živom hransom (kolnjaci, obogaćena artemija, predličinke komarče) ličinke su postupno privikavane na umjetnu hranu i/ili mljevenu sirovu ribu te je mlađ pri tjelesnoj masi od 3 do 5 g (36–40 dana nakon valjenja) nasaden u kavezе. Nakon nasadihanja mlađ je hranjen mljevenom odmrznutom ribom do sitosti. Ukupni mortalitet od nasadihanja mlađa do postizanja tjelesne mase od pola kilograma iznosio je 60–90 %, da bi se nakon 5. mjeseca uzgoja smanjio ispod 2 % mjesečno. Pokusi s uzgojem ličinaka i mlađa ponovljeni su idućih godina, uz smanjen mortalitet ličinaka zahvaljujući dodatku obogaćenih kolnjaka i veslonozaca u hrani. Mlađ je nasaden

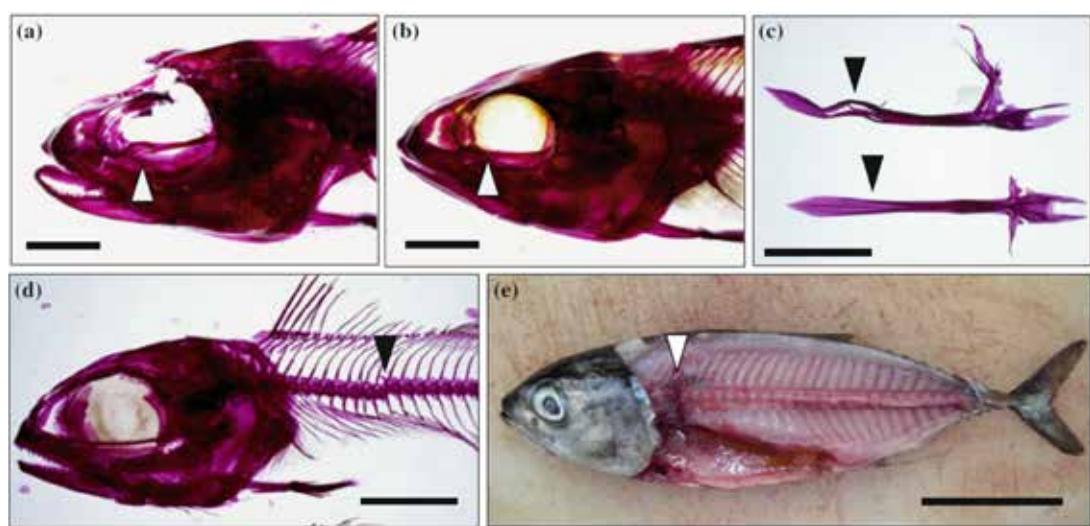
u kavezе te je postigao masu od 2,5 kg u roku od 160 dana nakon valjenja. Nakon četiri godine uzgoja tune su dosegnule masu veću od 60 kg te su prebačene u uzgojne kavezе smještene u akvatoriju uz jugoistočnu obalu Španjolske. Sredinom lipnja iduće godine kavez je obložen platnom od PVC-a, a u srpnju su se tune izmrijestile te je prikupljeno 60 000 komada ikre koja je otpremljena u mrijestilište na inkubaciju. Postotak oplodnje iznosio je 70 %, uz promjer ikre od 1,08 mm. Postotak valjenja iznosio je 85 %, a prosječna standardna dužina licinaka nakon valjenja bila je 2,75 mm. Tako je prvi put u povijesti zaokružen uzgojni ciklus atlantske tune u zatočeništvu (Ortega i De La Gádara, 2017.).

RASPRAVA

Opsežna istraživanja fiziologije reprodukcije tune, uključujući razumijevanje procesa razvoja testisa i ovarija, utjecaja spolnih hormona na spolno sazrijevanje te uvjeta okoliša koji potiču tune na mriješćenje, dala su odgovore i pružila mogućnost provedbe indukcije mrijesta. Kao rezultat toga, primjenom hormona koji oslobađa gonadotropin uspješno je inducirano mriješćenje tune u uzgojnim kavezima i prikupljene su velike količine oplođene ikre (Benetti i sur., 2016.; Bridges, 2015.).

Zaokružen uzgojni ciklus započinje formiranjem matičnih plova i nastavlja se prikupljanjem oplođene ikre nakon što se tune izmrijeste

Slika 5. Ozljede parasfenoidne kosti i kralježnice kod pacifičke plavoperajne tune uzrokovane udaranjem u stijenke uzgojnog bazena. (a) Prijelom parasfenoidne kosti (vrh strelice). (b) Izgled lubanje bez ozljeda. (c) Parasfenoidna kost s prijelomom (gore) i bez prijeloma (dolje). (d) Dislokacija kralježnice (vrh strelice). (e) Prijelom kralježnice (vrh strelice). Mjerilo 0,5 cm (a–d), 5 cm (e). (a–d) Alizarin Red S-bojenje. Prilagođeno iz: Higuchi i sur., 2013.



u kavezu, bilo spontano bilo nakon indukcije mriesta. Ikra se prikuplja rano ujutro, povlačnim planktonskim mrežama, a uspješnost ovisi o brzini morske struje. Velik problem u uzgoju ličinaka jest kontaminacija ikre tune jajima drugih vrsta riba, primjerice palamide (*Sarda sarda*) i trupa (*Auxis rochei*). Ličinke tih vrsta rastu brže od ličinaka tune pa se počnu njima hraniti. Takvi se gubici mogu smanjiti sortiranjem prikupljene ikre na osnovi morfoloških obilježja ili uklanjanjem ličinaka neželjenih vrsta nakon valjenja (Bridges, 2015.). Poboljšanjem izvedbe kolektora treba omogućiti prikupljanje čiste ikre sa što manje primjesa. Preporučuje se dezinfekcija ikre odmah nakon prikupljanja radi suzbijanja patogenih mikroorganizama i parazita (Van Beijnen, 2017.).

Za daljnje unapređenje tehnologije bit će potrebno preseliti uzgoj u recirkulacijske sustave na kopnu gdje bi se matice i ličinke uzgajale u mrijestilištima pod kontroliranim uvjetima. Kontrolom čimbenika okoliša koji reguliraju sazrijevanje ikre i mrijest, poput temperature, jačine svjetlosti i fotoperioda, može se osigurati kontinuitet proizvodnje i dovoljna količina ikre. Osim toga pri držanju matica u bazenu prikupljanje ikre znatno je olakšano kao i sprečavanje kontaminacije ikrom drugih vrsta riba. S obzirom na to da matice držane u bazenima s recirkulacijskim sustavom s vremenom postaju manje produktivne, idealno je rješenje kombinirani uzgoj, to jest držanje jedne skupine u bazenu, a druge u kavezu dok se ne oporave (Benetti i sur., 2016.; Van Beijnen, 2017.).

Velika smrtnost ličinaka i mlađa glavni je problem zbog kojega zaokruženi proizvodni ciklus još uvijek nije tržišno isplativ. Smrtnost vezana s nemogućnošću punjenja ribljeg mjeđura zrakom i potonućem ličinki može se umanjiti kombinirajući tehnike kojima se smanjuje površinska napetost ili poboljšavaju parametri kakvoće vode, poput upotrebe emulgatora, ugradnjom filtracijskih uređaja kojima se uklanja nečistoća s površine, aeracijom, pravilnim osvjetljenjem i uporabom inkubatora s uzlaznim protokom vode (Caggiano i sur., 2009.; Pandroulakis i sur., 2010.). Upotrebom tzv. *green water* tehnologije, kod koje se u spremnicima za uzgoj ličinaka istodobno uzgajaju i odredene vrste zelenih algi (fitoplankton), može se značaj-

no poboljšati kvaliteta vode. Pritom alge služe i kao hrana za zooplankton (veslonošci i kolnjaci) kojim se hrane ličinke, što rezultira njihovim poboljšanim rastom (De La Gándara i sur., 2010.).

Kanibalizam nanosi velike gubitke u uzgoju ličinaka. Može se smanjiti hranidbom koja sadržava predličinke drugih riba, veslonošce ili kolnjake obogaćene taurinom (Van Beijnen, 2017.). Dosadašnja istraživanja (Bridges, 2015.) govore da 15 – 30 dana nakon valjenja hranidba suhom, peletiranom hranom granulacije 300 – 500 µm (Skretting Tuna Starter, SKRETTING ARC, Norveška) nije dovoljna za odvikavanje ličinaka od žive hrane. Razlog može biti nedostatna hranidbena vrijednost, izostanak poticanja hranidbenog refleksa u usporedbi sa živom hranom ili neodgovarajući uvjeti za uzgoj ličinaka (Bridges, 2015.). Zasad je u ovom stadiju ličinačkog razvoja zadovoljavajući uspjeh polučila jedino hranidba predličinkama komarče. Opskrba dovoljnom količinom takve hrane ograničavajući je čimbenik i velik finansijski izdatak jer je za 1000 ličinaka tune potrebno osigurati dnevno oko 500 000 komada predličinaka komarče. Pokušaji zamjene prirodne hrane peletiranom, hranidba zamrznutom ikrom komarče, zamrznutim ličinkama hame (*Argyrosomus regius*), nauplijama i odraslim artemijama, sušenim mnogočetinašima te živim ličinkama srdele zasad nisu dali zadovoljavajuće rezultate (Bridges, 2015.). Yúfera i suradnici (2014.) istraživali su razvoj probavnog sustava u tune te su analizom sadržaja želuca utvrdili da ličinke već u dobi od 16 dana uzimaju suhu peletiranu hranu. No da bi uspješno rasle i prošle kritično razdoblje, ipak je nužna i dodatna hranidba predličinkama. Prema Betancor i suradnicima (2018.) ličinke se u dobi od 27 dana nakon valjenja mogu početi odvikavati od hranidbe predličinkama komarče i početi hraniti komercijalnom peletiranom hranom granulacije 0,6 – 0,9 mm (Magokoro®, MGK, Marubeni Nisshin Feed Co., Japan), namijenjenoj hranidbi pacifičke plavoperajne tune. Potpun prelazak na gotovu hranu moguć je u starosti od 32 dana nakon valjenja. Pojava kanibalizma može se smanjiti i redovitim i pažljivim sortiranjem mlađa po veličini, prilagodbom intenziteta rasvjete i odgovarajućom gustoćom nasada (Bridges, 2015.; Van Beijnen, 2017.).

Smatra se da je udaranje ličinaka tune u stijene bazena ili mrežu uzgojnog kaveza uzrokovano oslabljenim vidom zbog nepotpuna razvoja živčanog sustava i mrežnice (Partridge, 2013.), dok je kod mладунaca vjerojatan razlog udaranja stres, potaknut naglim promjenama intenziteta svjetla i zvuka (Masuma i sur., 2008.; Honryo i sur., 2013.). Nedostatak taurina navodi se kao jedan od mogućih razloga nepotpuna razvoja mrežnice. Kod ličinaka tune starih 2 – 14 dana, hranjenih kolnjacima obogaćenima dokozahksaenskom kiselinom (DHA) i taurinom, zabilježena je poboljšana sinteza opsina u mrežnici uz pozitivan učinak na sposobnost vida. Tako hranjene ličinke bile su uspješnije u hvatanju žive hrane, što je u konačnici povećalo postotak preživljavanja i ukupnu biomasu (Bridges, 2015.; Koven i sur., 2018.). Sličan se učinak može postići i hranidbom veslonosćima, koji sadržavaju visoke koncentracije taurina (Bridges, 2015.). Da bi se smanjio stres, potrebno je stabilno okruženje što podrazumijeva ugradnju sustava koji će osigurati da ne dolazi do nestanka električne energije. Gubici uzrokovani udaranjem ličinaka i mlađa u stijenke bazena mogu se smanjiti upotrebom noćnog svjetla u mrijestilištima (Partridge, 2013.), bojenjem stijenki prugastim ili točkastim uzorkom, odnosno oblaganjem plastičnom folijom ili gustom mrežom (Bridges, 2015.).

Nadalje, radi smanjenja gubitaka koji nastaju prije i nakon prebacivanja mlađa u uzgojne kaveze u moru, potrebno je osigurati optimalne uvjete prilikom transporta i nakon nasadišvanja mlađa. Treba odabrati najpovoljniju lokaciju uzgajališta na kopnu i u moru, transportne spremnike za mlađ obložiti plastikom ili pjenom, a u uzgojnem prostoru osigurati odgovarajuću rasvjetu. Iskustva iz mrijestilišta smještenih na Malti, u Izraelu, Španjolskoj i Turskoj govore da je mlađ najbolje prebaciti u kaveze čim se privikne na suhu peletiranu hranu (Bridges, 2015.; Van Beijnen, 2017.).

Daljnja istraživanja bit će vjerojatno usmjerena u dva pravca: na proizvodnju mладунaca tjelesne mase 2 – 5 g i starosti 35 dana za daljnji uzgoj mlađa ili na proizvodnju većeg mlađa, tjelesne mase 1,5 kg, koji bi dosegnuo konzumnu veličinu za 130 dana uzgoja, što bi moglo zamijeniti sadašnji način opskrbe živom ribom

iz ulova. Uz umjetni mrijest, drugo područje na kojemu se provode istraživanja jest razvoj peletirane hrane, što je temelj za održivost takva načina uzgoja i zamjena dosadašnjeg načina hranjenja sitnom plavom ribom. Prednosti hranjenja peletiranom hranom jesu bolje iskoriščavanje hrane i lakša prilagodba njezine hranidbene vrijednosti, jednostavniji transport i skladištenje kao i smanjenje rizika od unosa bolesti (Ćurić, 2019.).

Zaokružen proizvodni ciklus uzgoja tune zahtijeva znatno veća ulaganja, a samim time uvjetuje i veću tržišnu cijenu krajnjeg proizvoda. Unatoč znatnim početnim uspjesima, nakon prestanka financiranja putem projekata Europske unije preostale privatne tvrtke teško će osigurati (financijski, tehnološki i kadrovski) dovoljan broj oplođene ikre i mlađa za daljnji razvoj tehnologije.

LITERATURA

- BENETTI, D. D., G. J. PARTRIDGE, A. BUENTELLO (2016): Advances in tuna aquaculture: from hatchery to market. Elsevier. Amsterdam.
- BETANCOR, M. B., A. ORTEGA, F. DE LA GÁNDARA, D. R. TOCHER, G. MOURENTE (2018): Performance, feed utilization, and hepatic metabolic response of weaned juvenile Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*): effects of dietary lipid level and source. Fish Physiol. Biochem. 45, 697-718.
- BRIDGES, C. (2015): Final report: Translation of domestication of *Thunnus thynnus* into an innovative commercial application. str. 1-40. URL: <http://www.transdott.eu/transdott/wp-content/uploads/2016/02/TRANSDOFT-FINAL-REPORT-SUMMARY.pdf>. (12.10.2020.)
- CAGGIANO, M., M. CAMPANA, M. MOSCATO, A. CORREIRO, M. DEFLORIO, G. GRILLI, A. INTINI, M. A. VALENZA, G. DE METRIO (2009): Recent developments in larval and juvenile rearing of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). "Sustainable aquaculture of the bluefin and yellowfin tuna – closing the life cycle for commercial production". Proceedings of the 2nd Global COE Program Symposium of Kinki University, 30 November-2 December. Osaka, Japan. str. 25-30.

- CINOTI, N., V. KATAČIĆ, J. GOMEZJURADO, Y. ZOHAR (2017): Overview of Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* spawning programme in Kali tuna group. Aquaculture Europe, 17-20 October. Dubrovnik, Croatia.
- CORRIERO, A., A. MEDINA, C. C. MYLONAS, F. J. ABASCAL, M. DEFLORIO, L. ARAGÓN, C. R. BRIDGES, N. SANTAMARIA, G. HEINISCH, R. VASSALLO-AGIUS, A. BELMONTE, C. FAUVEL, A. GARCIA, H. GORDIN, G. DE METRIO (2007): Histological study of the effects of treatment with gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) on the reproductive maturation of captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). Aquaculture 272, 675-686.
- CORRIERO, A., A. MEDINA, C. C. MYLONAS, C. R. BRIDGES, N. SANTAMARIA, M. DEFLORIO, M. LOSURDO, R. ZUPA, H. GORDIN, F. DE LA GÁNDARA, A. BELMONTE RÍOS, C. POUSIS, G. DE METRIO (2009): Proliferation and apoptosis of male germ cells in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) treated with gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa). Anim. Reprod. Sci. 116, 346-357.
- CORRIERO, A., R. ZUPA, G. BELLO, C. C. MYLONAS, M. DEFLORIO, S. GENOVESE, G. BASILONE, G. BUSCAINO, G. BUFFA, C. POUSIS, G. DE METRIO, N. SANTAMARIA (2011): Evidence that severe acute stress and starvation induce rapid atresia of ovarian vitellogenic follicles in Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) (Osteichthyes: Scombridae). J. Fish Dis. 34, 853-860.
- ČURIĆ, I. (2019): Novije spoznaje o tehnologiji uzgoja tune (*Thunnus thynnus*) – mogućnost umjetnog mrijesta. Diplomski rad. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
- DE LA GÁNDARA, F., C. C. MYLONAS, D. COVES, A. ORTEGA, C. BRIDGES, A. BELMONTE, R. VASSALLO-AGIUS, N. PAPANDROULAKIS, H. ROSENFIELD, A. TANDLER, A. MEDINA, G. DE METRIO, A. CORRIERO, C. FAUVEL, J. FALCON, K. SVEINSVOLL, A. GHYSEN, S. DEGUARA, H. GORDIN (2010): Seedling production of Atlantic bluefin tuna (ABFT) *Thunnus thynnus*. THE SELFDOTT PROJECT. Joint International symposium of Kinki University and Setouchi town on the 40th anniversary of Pacific bluefin tuna aquaculture, Towards the sustainable aquaculture of bluefin tuna, 15-16 October. Amami, Japan. str. 45-52.
- GORDOA, A., M. P. OLIVAR, R. AREVALO, J. VIÑAS, B. MOLÍ, X. ILLAS (2009): Determination of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) spawning time within a transport cage in the western Mediterranean. ICES J. Mar. Sci. 66, 2205-2210.
- GORDOA, A., G. CARRERAS (2014): Determination of Temporal Spawning Patterns and Hatching Time in Response to Temperature of Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*) in the Western Mediterranean. PLoS One 9, e90691.
- GRUBIŠIĆ, L., T. ŠEGVIĆ-BUBIĆ, I. LEPEŃ PLEIĆ, K. MIŠLOV-JELAVIĆ, V. TIĆINA, I. KATAVIĆ, I. MLADINEO (2013): Morphological and Genetic Identification of Spontaneously Spawned Larvae of Captive Bluefin Tuna in the Adriatic Sea. Fisheries 38, 410-417.
- HIGUCHI, K., Y. TANAKA, T. EBA, A. NISHI, K. KUMON, H. NIKAIDO, S. SHIOZAWA (2013): High incidence of death due to collision of hatchery-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* juveniles in sea cages, as revealed by head and spinal injuries. Fish. Sci. 79, 111-117.
- HONRYO, T., M. KURATA, T. OKADA, Y. ISHIBASHI (2013): Effects of night-time light intensity on the survival rate and stress responses in juvenile Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) (Temminck and Schlegel). Aquac. Res. 44, 1058-1065.
- INA, Y., T. TAKAGI, S. MIYASHITA, M. KURATA, T. HONRYO, Y. SAWADA, H. FUKUDA, S. TORISAWA (2020): Analysis of sinking death using video images of the swimming performance of Pacific Bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) larvae. Aquacult. Eng. 90. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102099>. (12. 10. 2020.)
- KOVEN, W., O. NIXON, G. ALLON, A. GAONA, S. EL SADIN, J. FALCON, L. BESSEAU, M. ESCANDE, R. VASSALLO-AGIUS, H. GORDIN, A. TANDLER (2018): The effect of dietary DHA and taurine on rotifer capture success, growth, survival and vision in the larvae of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). Aquaculture 482, 137-145.

- LAIZ-CARRIÓN, R., T. GERARD, A. URIARTE, E. MALCA, J. M. QUINTANILLA, B. MUHLING, F. ALEMANY, S. PRIVOZNIK, A. SHIROZA, J. LAM-KIN, A. GARCÍA (2015): Trophic ecology of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) larvae from the Gulf of Mexico and NW Mediterranean spawning grounds: a comparative stable isotope study. PLoS One 10, e0138638.
- MASUMA, S., S. MIYASHITA, H. YAMAMOTO, H. KUMAI (2008): Status of Bluefin Tuna Farming, Broodstock Management, Breeding and Fingerling Production in Japan. Rev. Fish. Sci. 16, 385–390.
- MASUMA, S., T. TAKEBE, Y. SAKAKURA (2011): A review of the broodstock management and larviculture of the Pacific northern bluefin tuna in Japan. Aquaculture 315, 2-8.
- MYLONAS, C. C., C. BRIDGES, H. GORDIN, A. B. RÍOS, A. GARCÍA, F. DE LA GÁNDARA, C. FAUVEL, M. SUQUET, A. MEDINA, M. PAPADAKI, G. HEINSCH, G. DE METRIO, A. CORRIERO, R. VASSALLO-AGIUS, J.-M. GUZMÁN, E. MAÑANOS, Y. ZOHAR (2007): Preparation and administration of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH α) implants for the artificial control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). Rev. Fish. Sci. 15, 183-210.
- MYLONAS, C. C., A. FOSTIER, S. ZANUY (2010): Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. Gen. Comp. Endocrinol. 165, 516-534.
- ORTEGA, A., F. DE LA GÁNDARA (2017): Closing the life cycle of the atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* in captivity. Aquaculture Europe 17, 17-20 October. Dubrovnik, Croatia. str. 857-858.
- ORTEGA, A., J. VIGURI, J. R. PRIETO, A. BELMONTE, D. MARTÍNEZ, M. VELÁZQUEZ, F. DE LA GÁNDARA, M. SEOKA (2014): First results on ongrowing of hatchery reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) kept in sea cages. Aquaculture Europe 14, 15-17 October. Donostia, San Sebastián, Spain. str. 931-932.
- PAPANDROULAKIS, N., A. ORTEGA, D. COVÈS, R. VASSALLO-AGIUS, A. TANDLER, S. STEFANAKIS, J. VIGURI, M. O. VIDAL, I. PAPADAKIS, F. DE LA GÁNDARA, F. RUELLE, P. ANASTASIADIS, C. C. MYLONAS, P. DIVANACH (2010): First re-
- sults of the Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) larval rearing in Europe in the frame of the SELF-DOTT project. Proceedings of the European Aquaculture Society, 5-8 October. Porto, Portugal. str. 968-969.
- PARTRIDGE, G. J. (2013): Closed-cycle hatchery production of tuna. U: Advances in Aquaculture Hatchery Technology. (Allan, G., G. Burnell, ur.). Woodhead Publishing Limited. Cambridge. str. 457-497.
- VAN BEIJNEN, J. (2017): The closed cycle aquaculture of atlantic bluefin tuna in Europe. Current status, market perceptions and future perspectives. Technical Report. Netherlands.
- YÚFERA, M., J. B. ORTIZ-DELGADO, T. HOFFMAN, I. SIGUERO, B. URUP, C. SARASQUETE (2014): Organogenesis of digestive system, visual system and other structures in Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) larvae reared with copepods in mesocosm system. Aquaculture 426-427, 126-137.
- ZOHAR, Y. (1989): Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. U: Fish Culture in Warm Water Systems: Problems and Trends. (Shilo, M., S. Sarig, ur.). CRC Press. Florida. str. 65-119.
- ZUPA, P., C. FAUVEL, C. C. MYLONAS, N. SANTAMARIA, L. VALENTINI, C. POUSIS, M. PAPADAKI, M. SUQUET, F. DE LA GÁNDARA, G. BELLO, G. DE METRIO, A. CORRIERO (2013): Comparative analysis of male germ cell proliferation and apoptosis in wild and captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). J. Appl. Ichthyol. 29, 71-81.