

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Fakulta rybářství a ochrany vod**

Použití Persterilu<sup>®</sup> v praxi k prevenci mykóz jiker ryb a jeho  
účinnost v antiparazitálních koupelích kaprovitých ryb  
v porovnání s užívanými přípravky

**Diplomová práce**

**Ondřej Fořt**

vedoucí práce

**Ing. David Gela, Ph.D.**

České Budějovice 2011

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení studenta: Ondřej Fořt

Studijní program: N4103 Zootechnika (navazující magistři)

Studijní obor: Rybářství

Název tématu: Použití Persterilu<sup>®</sup> v praxi k prevenci mykóz jiker ryb a jeho účinnost v antiparazitálních koupelích kaprovitých ryb v porovnání s užívanými přípravky.

**Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :**  
(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je porovnat účinnost a vhodnost užití Persterilu<sup>®</sup> v provozních podmínkách rybí líhně pro prevenci a léčbu vývojových stádií kaprovitých ryb a rovněž účinnost porovnat s dosud užívanými prostředky.

1. Student v přípravné fázi nastuduje dostupnou literaturu týkající se prevence antiparazitárních a protiplísňových koupelí u ranných stádií ryb. Samostatně vypracuje rešerši o metodách profylaktických opatření zabráňujících vzniku nálezů, chorob a parazitárních onemocnění, které ohrožují inkubované jikry a ranná stádia ryb do doby jejich expedice mimo rybí líheň. Student se zaměří na problematiku desinfekce technologické vody v rybích líhních a metodiky aplikací léčebně působících látek a přípravků do vodního prostředí.

Termín předložení vedoucímu diplomové práce: 31.3.2010

2. Provedení experimentální části diplomové práce, kdy student bude v průběhu reprodukční sezóny kaprovitých ryb porovnávat v provozních podmínkách rybí líhně v praxi užívané léčebně působící látky a účinek aplikace kyseliny peroctové, dodávané pod obchodním názvem Persteril<sup>®</sup>, vyrábí Overlack spol. s r.o., při prevenci a případné léčbě inkubovaných jiker a rybiho plůdku v období endogenní výživy.

Termín provedení experimentů: květen – červen 2010

3. Vyhodnocení a zpracování dat získaných v průběhu experimentů běžně užívanými statistickými metodami, vyhotovení diplomové práce dle schválených norem pro diplomové práce.

4. Odevzdání diplomové práce do 15.5.2011.

Rozsah grafických prací: Podle potřeby

Rozsah průvodní zprávy: 50-60

Seznam odborné literatury:

- Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1997. Nemoci sladkovodních ryb. Informatorium. Praha
- Gela, D., Kocour, M., Flajšhans, M., Rodina, M., Beránková, P. a Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Edice Metodik VÚRH č. 99 (v tisku)
- Kouřil, J. a kol., 1984. Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice Metodik VÚRH
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1998. Použití Jodisolu k prevenci mykóz jiker kaprovitých a některých dalších druhů ryb. Edice Metodik VÚRH
- Liltved, H., 2003. Dezinfekce vody v akvakultuře. Edice metodik, 71: 1–12.
- Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, S., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. Informatorium Praha. 264 s.

Vedoucí diplomové práce: Ing. David Gela, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Petra Beránková

Datum zadání diplomové práce: 30.11.2009

Termín odevzdání diplomové práce: 15. května 2011

L.S.

Ředitel ústavu

Děkan

Ve Vodňanech dne

25.1.2010

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

.....

Prohlašuji, že svoji bakalářskou (diplomovou) práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské (diplomové) práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 8. 5. 2011

.....

Mé poděkování patří především mému školiteli Ing. Davidu Gelovi, Ph.D. za vedení této práce, za metodickou pomoc a odborné usměřování a za zapůjčení aparátů a příslušenství na Genetickém centru FROV JU ve Vodňanech.

Dále děkuji své konzultantce Mgr. Petře Beránkové za cenné rady a korekci.

# OBSAH

1 Úvod.....	9-10
2 Literární přehled.....	11-24
2.1. <u>Legislativní předpisy</u> .....	11
2.2. <u>Dezinfekční prostředky používané v rybochovných objektech</u> .....	11-12
2.3. <u>Dezinfekční prostředky používané k léčebným koupelím ranných stádií ryb a jiker</u> .....	12-13
2.3.1. Kuchyňská sůl.....	13
2.3.2. Jodisol.....	14
2.3.3. Malachitová zeleň.....	15-16
2.3.4. Acriflavin.....	16
2.3.5. Formaldehyd.....	16
2.4. <u>Dezinfekční prostředky používané k léčebným koupelím v akvaristice</u> .....	17
2.4.1 ESHA 2000.....	17-18
2.5. <u>Ostatní preparáty určené pro tlumení mykotických onemocnění</u> .....	18-19
2.6. <u>Ozonizace</u> .....	19-21
2.7. <u>Ozařování vody pomocí UV lamp</u> .....	21-22
2.8. <u>Persteril</u> .....	22-24
3 Materiál a metodika.....	25-30
4 Výsledky a diskuse.....	31-59
4.1. <u>Recirkulační systém odchovu</u> .....	31-45
4.2. <u>Průtočný systém odchovu</u> .....	46-59
5 Závěr.....	60-61
6 Seznam literatury.....	62-63
7 Přílohy.....	64-68





## 1 Úvod

Schopnost produkce gamet u jakýchkoliv druhů ryb je dána reprodukčními charakteristikami těchto druhů. Reprodukce je komplexní proces, odlišný u jednotlivých skupin nebo druhů, často nedostatečně poznáný u druhů nově zaváděných do akvakultury. Využití zkušeností s rybími druhy dříve zavedenými v akvakultuře, je základem pro řízení reprodukce nově zaváděných druhů. Přirozené výtěrové chování ryb je určeno požadavky pro přirozený výtěr v chovu a následně pro získání gamet a oplození (Pankhurst, 1998).

Umělý výtěr a následná inkubace jiker jsou běžnou součástí každoročního produkčního období na každé líhni. Tyto procesy skýtají mnoho peripetií a v rybářské praxi je třeba s nimi kalkulovat. Počínaje kvalitním výběrem jikernaček (z remontního hejna), jejich šetrným a nestresujícím vylovením (co nejkratší doba, způsob zacházení, atd.), přes přesně načasovanou stimulaci k výtěru, až k samotnému výtěru a následné aktivaci, odlepkování a umístění do líhňářských aparátů (Zugské lahve, Dněpry).

Pro úspěšnou inkubaci je třeba zajistit řadu technických parametrů v líhni. Mezi nejdůležitější patří kvalitní přítok, který by měl být seřízen tak, aby se jikry volně vznášely a byly v pohybu. To zabezpečuje dokonalé omývání povrchu všech jiker. Při silném přítoku hrozí, že část jiker bude stržena spolu s odtékající vodou (Krupauer, 1998). Je třeba také nasadit správné množství jiker na aparát – do klasických aparátů o objemu 9 litrů se doporučuje plnit do  $\frac{1}{2}$  až do  $\frac{3}{4}$  jejich objemu. Kyslíkatost vody putující do líhni je většinou přijatelná, avšak je nutné v případě nutnosti zajistit množství rozpuštěného  $O_2$  alespoň přes  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Negativní vliv má i náhlý rapidní nárůst, či pokles teploty vody.

Inkubace rybích jiker na rybích líhních se zpravidla neobejde bez použití antimykotických preparátů pro prevenci a tlumení myotických onemocnění, jejichž původci jsou parazitické plísňe rodu *Saprolegnia* a *Achlya* (Kouřil a Hamáčková, 1998). Částečně mohou být tyto zásahy omezeny v případech, kde je jako zdroj vody pro rybí líheň použito kvalitní podzemní vody, případně je součástí úpravny vody pro rybí líheň účinný mechanický filtr a zařízení pro dezinfekci vody UV zářením (Kouřil a Hamáčková, 1998). Většina rybích líhní je však napájena povrchovou vodou, která je přirozenou cestou kontaminována zárodky plísňí a dalších mikroorganismů (Kouřil a Hamáčková, 1998). Mimo toho jsou do inkubačních přístrojů nasazovány vedle

oplozených a vyvíjejících se jiker i jikry neoplozené, respektive v průběhu jejich vývoje dojde u určitého podílu jiker z nejrůznějších důvodů k přerušení vývoje, či k jejich odumření. Tyto odumřelé jikry jsou poté velmi vhodným substrátem pro rozvoj plísni. Z těchto příčin je použití antimykotických preparátů pro prevenci a tlumení mykóz, zpravidla nutné ve všech případech, byť v různé intenzitě použití (Kouřil a Hamáčková, 1998).

Léčení ryb se provádí až v případě, kdy stupeň rozvoje nemoci bezprostředně ohrožuje život, nebo užitkovost ryb, anebo kdy se předpokládá ohrožení ryb v následném období. Léčebné zásady by měly být opatřením nouzovým, které nastupuje až v případě neúčinné prevence. Přidávání léčiv do vody je zaměřeno především na tlumení ektoparazitárních, plísňových a bakteriálních onemocnění povrchu těla a žaber (Svobodová, 1997).

Vhodnost, užití a výběr preparátu závisí na mnoha faktorech: fyzikálně – chemické vlastnosti vody (pH, teplota, koncentrace organických látek,  $\text{KNK}_{4,5}$ , Ca + Mg a další), druhová, hmotnostní a věková kategorie ryb (popř. jikry) – nutná vždy kontrola snášenlivosti na daný preparát a terapii. Tyto vlastnosti bezprostředně souvisí s kvalitou vody, přičemž by měly tyto hodnoty být co nejbližší optimu, tzn., že v případě extrémních hodnot může docházet tím pádem k větším ztrátám.

Je známo poměrně široké spektrum přípravků, které byly v minulosti běžně používány k prevenci mykotických nákaz jiker, avšak jejich vlastnosti byly povětšinou sekundárně negativní. Jako příklad můžeme uvést zanechávání reziduí ve vodě (Acriflavin), či v přímo v daném organismu, nebo například zvýšenou toxicitu některých přípravků (malachiová zeleň). Tento fakt jistě ovlivňuje například následnou distribuci, či produkci, což je pro podniky problém, který chtějí řešit.

Je tedy snahou rybářských odborníků vytvořit, či najít takový přípravek, který by odpovídal složením všem faktorům pro následný optimální odchov, či distribuci, s přihlédnutím na optimální a radikálně se neměnicí stav vody v líhni, i vody z líhne odtékající.

Další řádky této práce se budou zabývat problematikou dezinfekce v líhni a antimykotickými koupelemi jiker, dále budou uvedeny konkrétní parametry a úspěšnost jednotlivých užívaných přípravků.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Legislativní předpisy

Desinfekci, desinsekci a deratizaci (DDD) smí provádět jen kvalifikovaná osoba, která složila předepsanou zkoušku. Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví s účinností od 1. ledna 2001 stanoví odbornou způsobilost fyzické osoby provádějící speciální ochrannou dezinfekci, desinsekci a deratizaci, a to ve třech kvalifikačních úrovních. Pro provozní aplikace v rybářství je zapotřebí mít alespoň kvalifikační úroveň 1), kdy osoba musí být starší 18 let, musí absolvovat základní kurs dle § 58 odst. 1 zákona č. 258/2000 Sb., ve znění pozdějších předpisů, nebo jinak získat odborné znalosti v rozsahu upraveném zvláštním právním předpisem a také podrobit se před komisí úspěšně zkoušce z odborné způsobilosti. Konkrétně je nutná znalost zák. č. 356/2003 Sb. o chemických látkách a dále novela zák. č. 120/2002 Sb. o biocidech, zák. č. 297/2008 Sb. Řídit a dohlížet na výkon speciální ochranné DDD, při které se používají toxické nebo vysoce toxické chemické látky a přípravky může pouze fyzická osoba, která má kvalifikaci podle §58 odst. 2 a 3 zákona č. 258/2000 Sb. Dále je zapotřebí znalosti veterinárního zákona č. 166/1999 Sb. a souvisejících předpisů.

### 2.2 Dezinfekční prostředky používané v rybochovných objektech

Zařazení správných dezinfekčních postupů a jejich dodržování ve sladkovodním rybářství i akvaristice patří k zásadním předpokladům nízkých ztrát při odchovu rybích násad a tvoří nezbytnou součást všech výrobních technologií (Čítek, 1997). Dezinfekci lze definovat jako takové opatření, které vede ke zneškodňování a ničení zárodků nakažlivých nemocí zvířat (ČSN 466019). Provádět dezinfekci je tedy povinností provozovatele.

Dezinfekční prostředek musí stoprocentně zaručovat konečný efekt, musí mít přijatelnou pořizovací cenu a velmi důležitý je charakter účinné látky. Při pořizování přípravku je třeba zvažovat více hledisek – používanou koncentraci, minimální teplotu nutnou k vysoké účinnosti a charakter účinných látek (Seydlová, Seydl, 1997).

Nutností je dodržet přesný a konkrétně daný technologický postup - úplně vyskladnit všechny ryby z daného prostředí a odstranit všechny organické zbytky z odchovných objektů a prostorů v celém areálu před započítím dezinfekce, aby nemohlo dojít k druhotné kontaminaci již dezinfikovaných prostor. Rovněž musí být provedena dokonalá mechanická očista všech zařízení tak, aby byly odstraněny všechny nánosy a především u betonových, kovových a skleněných zařízení byla zřetelná čistota daného materiálu. Dále je nezbytný úklid a asanace okolí budov. „Toto se provádí na líhních před výtěrovou sezónou a v menším rozsahu v odstávkách mezi výtěrem štiky a kapra“ (Gela, in verb).

Desinfekci můžeme rozdělit na preventivní, neboli ochrannou, která se provádí v intenzivních chovech po ukončení každého chovného turnusu. Dbá se při ní na to, aby po účinné desinfekci zůstal objekt alespoň 14 dní prázdný. Dále dezinfekci ohniskovou, která se provádí způsobem a prostředky, které stanoví veterinární služba dle Směrnice o veterinární péči (veterinární zákon č. 166/2000 Sb.), která slouží pro účinné tlumení jednotlivých chorob a je velmi podrobně rozpracována. Pokud jsou dodrženy doporučené dávky a expoziční doby, je dostatečně účinná (Čítek, 1997).

Je třeba poznamenat, že pravidelná a pečlivá očista všech komponentů a příslušenství v líhni v průběhu roku snižuje potencionální možnost vzniku neočekávaných zdravotních, či jiných komplikací v chovu.

### 2.3. Dezinfekční prostředky používané k léčebným koupelím ranných stádií ryb a jiker

Léčebné koupele, které se v rybářství používají, se dle délky trvání dělí na ponořovací, krátkodobé a dlouhodobé. Ponořovací koupel trvá nejdéle 5 minut, krátkodobá koupel 5 minut až 2 hodiny. V těchto případech jsou aplikovány poměrně velké koncentrace preparátů. Dlouhodobá koupel vyžaduje délku expozice 2 hodiny až několik dní. Jde většinou o ošetření celých chovných nádrží a rybníků léčebnými prostředky (Svobodová, 1997).

Inkubace rybích jiker na líhních se prakticky neobejde bez aplikace některého z antimykotických preparátů pro prevenci, či tlumení mykotických onemocnění, jejichž původci jsou parazitické plísňe rodů *Saprolegnia* a *Achlya* (Kouřil a Hamáčková 1998).

Povrchová voda je totiž přirozeně kontaminována zárodky plísni a dalších mikroorganismů. Mimo to také ve většině případů nasazujeme do líhňářských přístrojů jikry odumřelé, či neživotaschopné, které jsou výbornou živnou půdou pro rozvoj plísni. Proto je pro inkubaci jiker v povrchové vodě zapotřebí v různé intenzitě, avšak ve všech případech použít k prevenci a k tlumení mykóz některý z antimykotických preparátů.

Vhodnost užití a výběr preparátu závisí na mnoha faktorech: fyzikálně – chemické vlastnosti vody (pH, teplota, koncentrace organických látek,  $\text{KNK}_{4,5}$ , Ca + Mg a další), druhová, hmotnostní a věková kategorie ryb (popř. jikry) – nutná vždy kontrola snášenlivosti na použitý preparát a terapii.

### 2.3.1 Kuchyňská sůl

Používá se v praxi proti vnějším cizopasníkům (*Cryptobia*, *Ichtyobodo*, *Chilodonella*, *Piscinoodinium*, *Trichodina*, *Trichodinella*) a také mnohdy proti zaplísnění jiker i ryb (<http://www.akvastranky.com/lazne.htm>).

Při silné infekci dávkujeme 20g soli na 1 litr vody po dobu 15, až maximálně 40 minut (spíše 30 minut). Pro velmi malý potěr se doporučuje dávka 10 g na 1 litr po dobu 30 minut. Dlouhodobá koupel sestává z 0,05 - 0,3 g na 1 litr vody po dobu více dní. Pro citlivější druhy ryb (z vod zvláště měkkých 0,7-1,25  $\text{mmol.l}^{-1}$  - hlavní užití u akvaristů) je vhodné použít dávku 0,05  $\text{g.l}^{-1}$  a doba použití koupele musí být kratší. Nutno sledovat chování ryb během léčení. U ryb podporuje tvorbu kožního slizu. Pokud je v chovu problém se slabým zaplísněním jiker, používá se dávka 10  $\text{g.l}^{-1}$  po dobu 5 - 20 minut (<http://www.akvastranky.com/lazne.htm>).

### 2.3.2 Jodisol

Jodisol je kapalina temně hnědé barvy. Podle Čs. lékopisu obsahuje tento jodoetergentní preparát účinnou látku poly-N-vinylpyrrolidon-2 (jodoforin). Používá se běžně v humánním lékařství (ve stomatologii) a k dostání je v lékárnách.

Při práci s preparátem Jodisol se doporučuje pracovat tak, aby nedošlo k potřísnění rukou, či jiných částí těla pracovníka obsluhy. U jedinců majících alergii na jod je nutné používat gumové rukavice.

Přípravek se požívá formou krátkodobé koupele jiker přímo v inkubačních lahvích. Od okamžiku aplikace přípravku do láhve se začíná měřit čas. V průběhu koupele provádíme několikrát promíchání celého obsahu láhve. Doporučené koncentrace Jodisolu při délce koupele 2 minuty jsou uvedeny v tabulce č. 1. Frekvence provádění koupelí je uváděna jako optimální na 1-2x denně, přičemž první koupel aplikujeme cca ½ dne od zahájení inkubace. Dávkování preparátu závisí na teplotě vody, při které je inkubace prováděna. Všeobecně platí, že v rámci doporučeného rozpětí pro jikry jednotlivých druhů se při nižších teplotách používá vyšší koncentrace přípravku a naopak při vyšších teplotách nižší koncentrace (Kouřil a Hamáčková, 1998).

Tabulka č. 1: Ředění preparátu Jodisolu při různé teplotě vody

teplota vody (°C)	koncentrace koupele (ml.l-1)
17-20	5 - 10 ml
20-22	3 - 5 ml
22-25	2 - 3 ml

### 2.3.3 Malachitová zeleň

Malachitová zeleň (oxalát malachitové zeleně) se v rybářské praxi používala ve formě krátkodobých a dlouhodobých protiplísňových a antiparazitárních koupelí ryb a protiplísňových koupelí jiker. Mechanismus působení malachitové zeleně spočívá v zablokování dýchacích enzymů bakterií a parazitů. Fungicidní účinky malachitové zeleně jsou známy od poloviny třicátých let. V šedesátých letech se malachitová zeleň ukázala jako nejúčinnější prostředek proti jednobuněčným ektoparazitům, zejména proti *Ichthyophthirius multifiliis*. Význam malachitové zeleně ještě vzrostl, když se prokázala její účinnost na plíseň *Saprolegnia sp.* u jiker (Svobodová, 1997).

V našich podmínkách se malachitová zeleň využívala zejména při nálezu rybích parazitů *Ichthyophthirius multifiliis*, *Ichthyobodo necator*, *Trichodina sp.*, *Trichodinella sp.*, *Chilodonella sp.* a při povrchovém zaplísnění ryb. Dá se říci, že v některých situacích je téměř nenahraditelná. Malachitová zeleň se většinou aplikuje v koncentraci 0,5 mg.l<sup>-1</sup> u kaprovitých ryb a 0,15 až 0,2 mg.l<sup>-1</sup> u lososovitých ryb ve formě šestidenní koupele s každodenní výměnou lázně. Dále se malachitová zeleň používá v kombinované koupeli spolu s formaldehydem, tzv. FMC (0,25 mg.l<sup>-1</sup> malachitové zeleně a 0,125 ml.l<sup>-1</sup> 36 až 38% vodného roztoku formaldehydu). V tomto případě se jedná o šestihodinovou nebo dvouhodinovou koupel, která se opakuje 2 až 3krát v 1 týdnu (Svobodová, 1997).

Malachitová zeleň vykazuje vysokou toxicitu pro ryby, takže letální koncentrace pro ryby a doporučené terapeutické koncentrace jsou velmi blízké. Průběh otravy je velmi rychlý a u kapra obecného a pstruha duhového obdobný. Klinické příznaky jsou charakterizovány silným neklidem, ryby nekoordinovaně plavou v lázni, pohybují se v horní polovině nádrže, vyskakují nad hladinu, u kaprů lze pozorovat nouzové dýchání. Následuje ztráta rovnováhy, útlum, agónie a úhyn. Patologicko-anatomický obraz otravy ryb malachitovou zelení je charakterizován nazelenalým zbarvením a zvýšeným zahleněním kůže, žábry jsou edematózně zduřelé, zvýšeně zahleněné, zbarvené přípravkem. V dutině tělní lze pozorovat zvýšený nástřik cév a často zelené zbarvení vnitřních orgánů. Dalším významným problémem použití malachitové zeleně jsou velké rozdíly v její toxicitě v závislosti na původu a je tedy nutné vždy provádět testy snášenlivosti (Svobodová, 1997).

Je zřejmé, že používat malachitovou zeleň paušálně a bez oprávněného důvodu (jako prevenci nebo její aplikací „zachraňovat“ zhoršenou kvalitu vody na líhních a rybochovných objektech) není možné. Na druhé straně je však třeba opakovaně zvážit její totální zákaz, neboť dosud není znám plnohodnotný preparát, který by její použití plně nahradil. Striktní dodržování takového zákazu bude pravděpodobně spojeno s výraznými ztrátami na líhních i rybochovných objektech.

#### 2.3.4 Acriflavin

Acriflavin se používá k potlačování protozoárních parazitů a povrchových bakteriálních, či plísňových onemocnění ryb a jiker. Acridinová barviva se vyznačují antiseptickou účinností na grampozitivní buňky, zejména koky. Acriflavin působí silně bakteriostaticky, a to i do hloubky tkání, snižuje sekreci ran a sliznic. V doporučených koncentracích nepoškozuje tkáň.

Jedná se hnědočervený krystalický prášek rozpustný ve vodě, nebo žlutooranžovou olejovitou kapalinu. Doporučované léčebné koncentrace acriflavinu jsou ve srovnání s letálními koncentracemi pro ryby (terapeutický index\* okolo 5 ) několiknásobně nižší. Z tohoto důvodu je možno acriflavinové koupele považovat pro ryby za poměrně bezpečné.

Uplatňují se ve formě dlouhodobých koupelí (koncentrace  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  po dobu 10 hodin), a to především v akvaristice. V rybářské praxi se používá k potlačení mykotických onemocnění jiker, kde je doba expozice jiker závislá na koncentraci koupele.

(\* poměr dávky léčiva, který vyvolává léčebný účinek, k dávkce způsobující otravu)

#### 2.2.4 Formaldehyd

Jde o aldehyd mravenčí (HCHO), plyn štiplavého zápachu, rozpustný ve vodě na 40 % roztok, zvaný formalín, nebo formol. K dezinfekci v rybářství a chovu akvarijních ryb (nádrže, přístroje, akvária) používáme formaldehyd v dávkách  $50 \text{ až } 120 \text{ ml.l}^{-1}$  vody po dobu 2 hodin při teplotě dezinfekčního roztoku nad  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  (Svobodová, 1997).



## 2.4. Dezinfekční prostředky používané k léčebným koupelím v akvaristice

V akvaristice je k dispozici řada preparátů uváděných pod různými obchodními názvy (Preventiv, General Tonic, Fungi Stop, Antimykotin, Antioodin Contra Ick atd. ). Jejich složení bohužel výrobce obvykle neuvádí, je uvedena pouze metodika použití. Tyto preparáty určené k prevenci a léčení akvarijských ryb obsahují většinou některou z výše uvedených léčebných látek. V akvarijském chovu ryb jsou používány s větším nebo menším úspěchem. Nejoblíbenějším preparátem je u akvaristů FMC . Zde je na rozdíl od ostatních uvedeno přesné složení 3,5 g malachitové zeleně, 3,5 g metylenové modři v 1000 ml 36 až 40% formaldehydu. Léčebná koupel se připraví přidáním 1,5 až 3 ml FMC do 100 l vody, koupel trvá 3 dny, každý den je léčebná lázeň obnovována. Koupel je využívána zejména při nálezů druhů rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella* a při povrchovém zaplísnění. V kombinaci s každodenním přelovením ryb se osvědčila i k tlumení ichtyoftiriózy. Metoda léčení pomocí přechodného zvýšení teploty vody spočívá v tom, že teplota vody s infikovanými rybami se postupně zvyšuje na 31 až 32 stupňů po dobu 3 dnů a pak se opět snižuje na původní výši. Obsádka ryb se infekce zbaví a současně získá značný stupeň imunity. V praxi se tato metoda používá k likvidaci ichtyoftiriózy, především v chovu akvarijských ryb a ve speciálních rybochovných zařízeních s oteplenou vodou.

### 2.4.1 ESHA 2000

ESHA 2000 je širokospektrální přípravek hojně využívaný v akvaristice. Pro sladkovodní ošetření zatím nejsou známy dávky, v akvaristice se používá kombinovaná dávka rozdělená do 3 dnů (Tabulka č. 2). Výrobce uvádí, že kromě mořských ryb lze přípravek aplikovat jako koupel pro všechny ostatní druhy. Léčí primární a sekundární plísňové infekce, bakteriální kožní infekce a účinkuje též proti parazitům kůže a žáber. Navíc má schopnost pomáhat hojení ran a chránit kožní vrstvu. Výhodou pro akvaristy může být fakt, že nepůsobí toxicky na rostliny.

Tabulka č. 2: Dávkování preparátu ESHA 2000 (počet kapek na 10 litrů vody)

den	1	2	3
počet kapek	10	5	5

## 2.5. Ostatní preparáty určené pro tlumení mykotických onemocnění

### Metronidazol

Humánní přípravek Entizol. Je možné použít jej v koncentraci  $4 \text{ mg.l}^{-1}$  po dobu 2 až 3 dnů. Metronidazol se vstřebává přes žábry a vytváří v krvi terapeutický účinnou koncentraci k likvidaci cizopasných bičíkovců (Frank, 2000).

### AquahumTM

Jedná se o přírodní kapalný huminový preparát s antimykotickým, antivirovým a antistresovým efektem vyráběný v České republice společností Amagro s.r.o.. Využití nachází v akvaristice, kde vedle antimykotického, antivirového a antistresového účinku na ryby a jikry též příznivě ovlivňuje růst a stav akvariálních rostlin. AquahumTM obsahuje 20 % huminových látek, dále pak stopové množství Mg, Si, Ca, S, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, Se, B, a Co.

### Bronpol

Je účinný při myotických onemocnění (*Saprolegnia sp.*) jiker ryb. Používá se ve formě léčebné koupele v koncentraci  $0,1 \text{ ml.l}^{-1}$  vody po dobu 30 minut (Frank, 2000).

## Wescodyne

Jododetergentní přípravky představují možnost náhrady nežádoucí toxické malachitové zeleně při ošetřování jiker různých druhů ryb s cílem omezení ztrát v průběhu inkubace v umělých podmínkách (Kouřil *et al.*, 1996). Jedním z preparátů používaných zejména v zahraničí k ošetření jiker lososovitých ryb je jododetergentní přípravek Wescodyne (Leitritz a Lewis, 1976). Podle Pechy (1981) je tento přípravek úspěšně používán i pro dezinfekci uměle inkubovaných jiker štiky. V našich podmínkách se běžně využívá podobného preparátu, Jodisolu. Wescodyne a Jodisol obsahují účinnou látku jodoforin, tj. komplex jodu s poly-N-vinylpyrolidonem-2, jsou dodávány ve formě kapaliny temně hnědé barvy a vyznačují se antivirovými a antimykotickými účinky (Kouřil *et al.*, 1997).

## 2.5 Ozonizace

Ozon je nejsilnější oxidační činidlo, které se v současnosti používá v mnoha úpravnách vod, aniž by mělo nevýhody chlóru. Především v západní Evropě ozon již do značné míry vytlačil aplikaci chlóru pro předoxidaci, hlavní dezinfekci a odbourávání organických látek v upravované vodě. Tomuto stavu se velice rychle přibližují i v USA a Japonsku. Podobnou situaci lze pozorovat i v oblasti bělení celulózy. Tento trend i nadále pokračuje, protože ozon má oproti chlóru mnoho předností, a naopak nemá jeho nedostatky. To jsou hlavní důvody, proč jsou dnes ozonové technologie tak úspěšné (Dřimal, 2008).

Je třeba zdůraznit mnoho různých efektů. Většina z nich je závislá na tom, kam je ozon dávkován a v jakém množství. V současné době se pro směšování ozonu s vodou (porézní difuzéry, radiální difuzéry, injektory) používají z různých důvodů především dva technologické stupně, a to předoxidace ozonem (preozonizace) a hlavní oxidace ozonem (hlavní ozonizace) (Dřimal, 2008).

Preozonizace zabezpečuje odstranění rozpuštěného železa, anebo manganu oxidací, dále odbarvení, odstranění zápachu a chuti, zlepšení mikroflokulace, redukce tvorby trihalometanů, snížení koncentrace prekurzorů trihalometanů, uspokojení spontánní spotřeby ozonu a oxidace anorganických látek, jako kyanidů, sulfidů a dusitanů. V preozonizaci jsou obvykle aplikovány nízké dávky ozonu při krátkých reakčních časech cca 1- 2 minuty. To je v souladu s tím, že v tomto stupni probíhají rychlé reakce. Obvykle je na výstupu z tohoto stupně nulová nebo velice malá zbytková koncentrace ozonu (Dřímál, 2008).

Hlavní ozonizace zajišťuje likvidaci bakterií, inaktivaci virů, oxidaci organických látek, jako např. fenolů, detergentů, pesticidů nebo jiných obtížně biologicky odbouratelných látek, konverzi CHSK na BSK, redukci obsahu DOC (Dissolved Organic Carbon – rozpuštěný organický uhlík), pokud je zařazen biologický filtrační stupeň, jako např. granulované aktivní uhlí (GAC), antracit nebo pomalý pískový filtr a snížení dávky primárního dezinfekčního činidla (chlór, chlór dioxid) nutné na ochranu vody v potrubním řádu. Reakční čas je typicky 4 minuty nebo delší, reakční rychlosti jsou relativně pomalé. Aby byla zaručena dostatečná dezinfekce, požaduje se splnění tzv. CT kritéria ( C - koncentrace ozonu v  $\text{mg.l}^{-1}$ , T - čas v minutách). Toho je dosaženo udržením zbytkové koncentrace ozonu o hodnotě  $0,4 \text{ mg.l}^{-1}$  po dobu 4 minut. Hodnota CT tedy musí činit minimálně  $1,6 \text{ mg.min.l}^{-1}$ . Z praktické zkušenosti je známo, že tato hodnota CT například zaručuje následující redukci počtu bakterií a virů (Dřímál, 2008).

Ozon je zdaleka nejúčinnějším dezinfektantem a především, že je jediným dezinfektantem zaručujícím účinnou inaktivaci cyst a oocyst parazitujících prvoků (Dřímál, 2008).

Využití ozonu v kombinaci s ultrafialovým zářením patří k nejmodernějším způsobům úpravy vody. V procesu ozon/UV, který se řadí k pokročilým oxidačním procesům (Advanced Oxidation Processes, AOP), se výrazně zvyšují výhody aplikace ozonu a ultrafialového záření. Při ozáření vody obsahující rozpuštěný ozon dochází k efektivní tvorbě hydroxylových radikálů a současně k úplnému rozkladu ozonu. OH radikály jsou částice s extrémně krátkou dobou života v řádu mikrosekund, ale současně patří k nejsilnějším známým oxidantům. Jejich působením dochází k vysoce účinné dezinfekci a oxidaci látek přítomných ve vodě. Účinnost procesu je výrazně vyšší než při působení samotného ozonu. Organický

materiál je oxidován až na neškodný oxid uhličitý, vodu a anorganické soli. Odstraněny jsou i chloraminy, tj. toxické látky přispívající nejvyšší měrou k obsahu vázaného chloru (Dřímál, 2008).

## 2.5 Ozařování vody pomocí UV lamp

Přirozené i umělé UV světlo (o vlnové délce 190-400 nm) může poškozovat mikroorganismy ať už přímo či nepřímo měněním nukleových kyselin. Přímé poškození DNA vzniká absorpcí záření a ústí do vytváření fotoproduktů. DNA absorbance je vysoká v C- rozsahu ultrafialového záření (190- 280 nm), klesá více než třířádově v B- rozsahu UV (280- 320 nm) a je zanedbatelná v A-rozsahu UV (320- 400 nm). Účinek poškozování DNA C- rozsahem UV je pak využíván v baktericidních lampách. Nízkotlaké lampy s rtuťovými výparry vydávají zhruba 85% svého energetického výkonu v podobě monochromatického světla od vlnové délce 253,7 nm, což je v rámci optimální vlnové délky od 250- 270 nm vhodné k baktericidnímu působení (Liltved, 2003).

Intenzita foto reaktivity je v silné korelaci s intenzitou světla. Za podmínek umělého světla z lampy je ke kompletní reaktivitě určitých bakterií zapotřebí několika hodin, intenzita slunečního světla redukuje dobu potřebnou k fotoreaktivitě na zlomky hodiny (Liltved, 2003).

Je dokázáno, že předfiltrace zlepšuje efekt UV záření při likvidaci bakterií. Už mikrosíta s oky 50 nm vedou k vyšší účinnosti, což dokazuje, že přítoková voda do rybochovných systémů by měla být před UV desinfekcí filtrována, aby se tak odstranily pevné částice, jež mohou nést „zakotvené“ bakterie (Liltved, 2003).

Mírná energetická úroveň UV záření nezanechává žádná toxická rezidua v upravované vodě. I když radiace může měnit chemické sloučeniny, dávky UV, využitě k desinfekci jsou příliš nízké na to, aby generovaly významná množství fotoproduktů. Právě tato netoxičnost má rozhodující význam při výběru UV záření jako vhodné metody v desinfekci vody na rybochovných zařízeních. Proto jsou UV zářiče běžně instalovány na farmách s mořským i sladkovodním chovem ryb a jsou využívány v recirkulačních systémech (Liltved, 2003).

Dávky UV záření na úrovni 2-6 mWs.cm<sup>2</sup> redukuje za laboratorních podmínek žijící mikroorganismy z 99,9 %. Nicméně za reálných provozních podmínek je k dosažení vysokého stupně inaktivace zapotřebí výrazně vyšších dávek. Inaktivační dávky, ověřené v laboratoři, je proto třeba při aplikaci v terénu brát se značnou opatrností (Liltved, 2003).

Rozhodující předností UV záření je absence toxických reziduí podobných produktů, relativně nízké náklady na úpravu vysoce kvalitní vody, snadná provozuschopnost a údržba i minimální požadavky na prostor. Pravidelným mechanickým a chemickým čištěním je nutno pečovat o údržbu zářičů. Hlavní nevýhodou této metody v akvakultuře je neúčinnost proti významným patogenním virům. To by případně mohlo v budoucnosti, pokud se proti virům najde účinné preventivní opatření, limitovat účinné UV záření (Liltved, 2003).

## 2.6 Persteril<sup>®</sup>

Persteril<sup>®</sup> (*Acidum peraceticum*) je ochranná známka pro funkční dezinfekční přípravek s kyselinou peroxyoctovou jako aktivní složkou. Spolu s peroxidem vodíku, kyselinou octovou, stabilizátorem a vodou vytváří aktivní roztok. Je vysoce efektivním biocidem a má rozsáhlé aplikační možnosti s přihlédnutím na šetrnost k životnímu prostředí a zároveň má nejširší spektrum dezinfekční účinnosti (A,B,C,T,M,V- tabulka č. 3). Je aktivním členem Sdružení DDD a partnerem CSS a je zaregistrován na Ministerstvu zdravotnictví jako biocidní přípravek pod registračním číslem: REG-3371-10.11.04/32247. U ÚSKVBL je veden jako veterinární biocid. Persteril 36% splňuje požadavky Acidum peraceticum 35% Českého lékopisu 2002. Je uveden v Seznamu dezinfekčních přípravků schválených hlavním hygienikem ČR. Splňuje rovněž legislativní podmínky EU o ochraně životního prostředí ([www.persteril.cz](http://www.persteril.cz)).

Tabulka č. 3: Spektra dezinfekční účinnosti Persterilu

A	usmrcení vegetativních forem bakterií a mikroskopických kvasinkových hub
B	virucidní účinek (O+ obalené viry; O- neobalené viry)
C	inaktivace bakteriálních spór
T	usmrcení <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
M	usmrcení potenciálně patogenních bakterií
V	fungicidní účinek na vláknité houby

Při aplikaci v běžných teplotách dosahuje 100% sterility v celém spektru mikrobů: bakterie, mykobakterie, viry (ptačí chřipka, TBC, HIV), plísně, spory (TBC, Antrax). Nejvhodnější formy aplikace jsou cirkulace, postřik, oplachování, ponořování, rozprašování aerosolu a odpařování. Hlavní oblastí použití prostředku je dezinfekce ploch pracovních stolů, podlah, stěn, stáčecích cest a zařízení, cisteren, tanků a kádí, vozů, přístrojů a nástrojů, sociálních zařízení, bazénů, stájí, ovoce, zeleniny a masa, šatstva, bot, prostorů klimatizace a vzduchotechniky, operačních sálů, inspekčních pokojů, boxů atd. Používá se ve zdravotnictví, potravinářství, veterinárním lékařství, zemědělství, úpravě vody atd ([www.persteril.cz](http://www.persteril.cz)).

Toxicita a nebezpečnost je dána žíravými a oxidačními účinky Persterilu. Při požití leptá sliznice zažívacího traktu. Při kontaktu s pokožkou má silný leptavý účinek, dochází k pálení a tvorbě puchýřů. Rozsah poškození závisí na době expozice a koncentraci roztoku. Při zasažení očí má silný leptavý účinek, páry silně dráždí. Při inhalaci dráždí a leptá sliznice dýchacích cest a způsobuje silný kašel. Při nadýchání je nutností okamžitě přerušit expozici a dopravit postiženého na čerstvý vzduch. Podle situace lze doporučit výplach ústní dutiny, případně nosu vodou. Při styku s kůží odstranit potřísněný oděv. Zasaženou pokožku omýt velkým množstvím vody a mýdlem, postižené plochy sterilně ošetřit. Podle závažnosti postižení zajistit lékařské ošetření. Při zasažení očí ihned vypláchnout oči proudem tekoucí vody, rozevřít oční víčka prsty (třeba i násilím). Výplach provádět nejméně 15 minut. Zajistit lékařské ošetření. K vyšetření musí být odeslán každý, i když se jednalo o malé zasažení. Při požití nevyvolávejte zvracení - hrozí nebezpečí dalšího poškození zažívacího traktu. Hrozí perforace jícnu i žaludku. Je nutno okamžitě vypláchnout ústní dutinu vodou a vypít 2-5 dl chladné vody. Nekonzumovat žádné jídlo. Ihned zajistit lékařské ošetření ([http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril\\_36.pdf](http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril_36.pdf)).

Skladuje se v původních neporušených obalech, při teplotě nejvýše 20 °C, nejnižší přípustná skladovací teplota je -30 °C. Sklad musí být dobře větratelný, s možností odsávat výpary. Je zakázána manipulace s otevřeným ohněm. Chránit před znečištěním, zvláště látkami organického charakteru a látkami obsahujícími ionty těžkých kovů (např. před rzi). Přestože stabilizovaný roztok vykazuje při normální teplotě poměrně malý úbytek kyseliny peroxyoctové, je nutné počítat s přirozeným poklesem její koncentrace, který je možno omezit pouze skladováním při teplotách kolem 0°C. Obaly nesmí být plynotěsně uzavřeny, přirozeným rozkladem kyseliny peroxyoctové vzniká kyslík, který by mohl vyvolat přetlak v plně uzavřeném systému.

Certifikované obaly s odvzdušňovacím uzávěrem z polyethylenu (HDPE)  
([http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril\\_36.pdf](http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril_36.pdf)).

Ekotoxicita:

- LC50, ryby (mg/dm<sup>3</sup>): 5,4 - 7; 96 hodin
- EC50, dafnie (mg/dm<sup>3</sup>): 1,13 - 2; 48 hodin
- IC50, řasy (mg/dm<sup>3</sup>): 1,4 - 4; 72 hodin
- EC50, kořen sinapis - inhibice růstu:  $346,8 \pm 111,6$  mg/l; 72 hod.



### 3 Materiál a metodika

Praktická část diplomové práce probíhala na líhni Genetického centra FROV JU ve Vodňanech a měla 2. části:

1) krátkodobá koupel a následný odchov jiker oplozených a odlepkovaných jiker v recirkulačním systému (tzv. „košíčky“ - viz. fotografie č. 1)

2) krátkodobá koupel a následný odchov identických jiker v průtočném systému (viz. fotografie č. 3).

1) Dne 20. 5. 2010 byl proveden 1. pokus praktické části diplomové práce na líhni Genetického centra FROV JČU ve Vodňanech. Nejdříve ze všeho byly důkladně omyty, očištěny a následně sestrojeny všechny komponenty recirkulace - bylo nutné omýt „košíčky“ a vlastní žlab, dále nastavit potřebnou výšku hladiny vody ve žlabu (objem 250 l), zprůchodnit stříky a instalovat UV lampu (18 W). Během aklimatizace jiker byly vytvořeny roztoky preparátů (tabulka č. 1) do klasických rybářských vaniček (fotografie č. 2). Pro usnadnění a dokonalou koupel byl zvolen objem 20 litrů vody plus odpovídající poměr preparátu na každou vaničku. Po aklimatizaci a vytvoření roztoků byly košíčky ponořeny do jednotlivých lázní, vždy po 5 košíčkách na 1 vanu s konkrétním roztokem (Persteril, Acriflavin, ESHA 2000 a kontrola bez ošetření jiker). Doba lázně (koupele jiker) byla po dohodě a uvážení stanovena na 1,5 hodiny, přičemž přesného odpočtu bylo dosaženo vždy zapsáním času vložení posledního košíčku do konkrétní lázně.

2) Dne 28. 5. 2010 byl proveden 2. pokus praktické části diplomové práce na líhni Genetického centra FROV JU ve Vodňanech. Byl proveden pokus na improvizovaném průtočném systému, který byl složen s 20 ks PET-lahví o objemu 1 litr a který byl hadicí napojený na rozvod říční vody bez mechanické filtrace, UV sterilizační lampy a ohřevu.

Po krátkém propláchnutí byl pomocí regulace přítok zastaven a do lahví bylo nasazeno cca ¼ jiker ku celému objemu lahve. V této chvíli bylo přistoupeno k aplikaci jednotlivých přípravků do jednotlivých lahví. Vzhledem k malému objemu lahví byla aplikace prováděna mikropipetou, kterou bylo docíleno přesného dávkování. Vždy po aplikaci byl celý obsah lahve důkladně promíchán skleněnou tyčinkou. Takto byl celý obsah promícháván i v průběhu celých koupelí, cca 1x za 5-7 minut. Celá koupel trvala

rovněž 1,5 hodiny. Po ukončení koupele byly jednotlivé lahve shora překryty nylonovou sítí, která byla k lahvi připoutána gumičkou a sloužila proti přepadávání jiker z lahve do žlabu a následně do odtokového kanálu.

Před samotným pokusem byl proveden umělý výtěr tímto postupem:

Nejdříve byly shromážděny generační ryby přímo do budovy líhně. Byly rozděleny dle pohlaví a nasazeny na jednotlivé bazény v odpovídajícím množství. V bazénech byl zajištěn dostatečný přítok (výměna vody v bazénu alespoň 1x za hodinu) a také byly instalovány vzduchovací kameny na několika místech bazénu. Generační ryby byly stimulovány před výtěrem hypofýzou (Gela *et al.*, 2009), což zajistilo přesné časové naplánování a synchronizaci výtěru. Těsně před výtěrem byla provedena zkouška připravenosti generačních ryb, kdy jemným potlačením zespona na dutinu břišní pozorujeme spontánní vypuzování pohlavních produktů u ryb k výtěru připravených.

Ještě než bylo přistoupeno k umělému výtěru, bylo nutné ryby krátkodobě vykoupat (uspat) v roztoku 2 – phenoxyethanolu (lze užít i hřebíčkový olej), který působí jako krátkodobé anestetikum (Kolářová *et al.*, 2007) a usnadní následnou práci s rybou při výtěru (utlumuje, či pozastavuje pohyb). Ryby cca po 1 minutě ztrácejí rovnováhu, dle čehož lze usoudit, že můžeme přistoupit k výtěru.

Před samotným výtěrem je také samozřejmostí zajistit řadu úkolů pro zdárný průběh výtěru ryb:

- Zajistit předem dostatečné množství zkušených pracovníků (zkušenosti s umělým výtěrem ryb)
- Připravit místnost s inkubačními lahvemi, vše předem důkladně očistit, lahve proplachovat min. 2 hodiny před nasazením
- Zakoupit plnotučné mléko, které slouží jako odlepkovací roztok (Gela *et al.*, 2009)
- Očistit, omýt a důkladně osušit misky na jikry
- Připravit nádoby na sperma ryb včetně zabezpečení odsávání, tzn. připravit víčka s jehlami na odsávání a brčkem sloužícím k odsávání spermatu přímo u

pohlavního otvoru (u ryb, kde hrozí kontaminace močí nutno použít imobilizační roztok - netřeba u kapra obecného)

- Zabezpečit uzavíratelný a dostatečně velký box s ledem ke krátkodobému uložení nádob se spermatem (Gela *et al.*, 2009)
- Nesmazatelný fix na popisky lahvíček s mlíčím a misek s jikrami
- Zabezpečit navlhčené utěrky jednak k lepší fixaci ryby při výtěru a jednak k překrytí lavoru s jikrami před jejich vlastní aktivací a oplozením
- Mít při ruce laptop s evidencí generačních ryb, podle které zjišťujeme původ jednotlivých vytíraných ryb (konkrétní plemeno, či ukazatele z předešlých let) v kombinaci se čtečkou čipů kompatibilní s daným laptopem.

Umělý výtěr u kapra obecného provádí na líhni většinou 2-3 pracovníci na jednu generační rybu. Nejdříve přistoupíme k výtěru jikernaček z důvodu větší odolnosti pohlavních produktů (jiker). Jeden z pracovníků vyloví z kádě uspanou rybu a položí si ji břichem nahoru do klína, přičemž rybu zafixuje v oblasti přechodu hlavy a trupu (nejvyšší obvod ryby) vlhkou utěrkou proti vyklouznutí. Druhá ruka tohoto pracovníka pak vytírá jikry do misky, kterou drží druhý pracovník přesně u pohlavního otvoru tak, aby jikry rovnoměrně stékaly po hraně misky (nesmí stékat po rybě, ne z výšky, či dokonce mimo misku). Takto vytvořený výtěrový tým může ještě doplnit třetí pracovník, který zafixuje ocasní ploutev vlhkou utěrkou, což ještě zlepší a usnadní výtěr – mírným „ohnutím“ ocasu dorzálním směrem u některých kusů dojde částečně k spontánnímu vypuzení pohlavních produktů. Jikry v miskách musí být překryty vlhkou utěrkou a takto mohou být krátkodobě uskladněny na nezbytně nutnou dobu. U výtěru mlíčáku je situace obdobná s rozdílem, že pohlavní produkty odsáváme přímo z ryby do připravených speciálních nádob, které pak ihned po označení (nesmazatelný fix) ukládáme na led. Označení ryb je prováděno mikročipovou metodou (P.I.T. tags), přičemž vždy po výtěru ryby ještě před vrácením jedince do bazénu sejmeme pomocí speciální čtečky kód, který je konkrétní pro danou rybu a po jehož přečtení se objeví informace (plemeno ryby, informace z předešlých výtěrů-množství jiker, mlíčí, atd.) na laptopu, který je kompatibilní s danou čtečkou čipů.

Po výtěru se přistoupilo ke smísení gamet, k jejich aktivaci vodou z líhně a následnému odlepkování (Gela *et al.*, 2009). Proces oplození probíhá rychle, odhadem (většinou máme dostatek spermatu, tzn. že dávkujeme spíše více než méně) přidáme odpovídající množství spermatu od požadovaných plemen mlíčáků do jiker a aktivujeme takto vytvořenou a dobře promíchanou směs pohlavních produktů vodou. Tuto směs opět důkladně promícháme a cca po 1 minutě (až se začnou tvořit hrudky jiker) můžeme pomalu začít přilévat mléko, opět tak, aby nedošlo k tvorbě hrudek jiker. S přiléváním mléka můžeme skončit, když se poměr vody a mléka zhruba vyrovná, případně můžeme i dopustit větší podíl mléka v odlepkovacím roztoku. Odlepkujeme alespoň 1 hodinu za stálého míchání směsi. Před nasazením aparátů zavřeme a upustíme cca do poloviny. Po skončení odlepkování dojde k nasazení na Zugské láhve, přičemž jikry by měly být nasazeny v množství maximálně do 1/2 – 3/4 láhve (každá láhev je dávkována odhadem). Poté byly zprůchodněny stříky do aparátů a přítok byl nastaven tak, aby jikry byly dostatečně promíchávány (celý obsah oplodněných jiker v aparátu), oplachovány a nadnášeny a zároveň tak, aby jikry nepřepadávaly do odtokového žlabu. Je tudíž nutno nastavit každý střík jeden po druhém (rozdílné množství jiker, rozdílná průchodnost stříků, atd.).

V této době, nebo respektive po krátké aklimatizaci jiker na aparátech se přistoupilo k antimykotické koupeli jiker, která může být rovněž provedena později, avšak vždy nejpozději do tzv. stádia očních bodů u jiker, případně se koupel v průběhu inkubace několikrát opakuje (dle užitého přípravku a doporučeného návodu k použití). Teplota vody v recirkulaci ve dnech pokusů byla 17,2 °C (použito akvarijní topítko 200 W s termostatem) a teplota antimykotické lázně byla 16,8 °C. Cirkulace vody byla zajištěna ponorným čerpadlem pro akvária (průtok cca 500 l/hod). Na průtočném systému probíhal pokus 28. 5. 2010 a teplota vody zde byla naměřena na hodnotě 11,4 °C. U recirkulačního systému byla dávka jiker pro pokus zvolena na 1 g (700-800 jiker). Toto množství bylo postupně nasazeno na všechny koše v recirkulaci (37 košů). Odměrkou bylo do klasické rybářské vaničky nalito přesně 20 litrů vody a odpovídající dávky byly aplikovány nastavitelnou mikropipetou. Připravený roztok se dobře promíchal skleněnou tyčinkou. Doba expozice jiker byla stanovena na 1 hodinu a 30 minut. U průtočného systému bylo odhadem nasazeno cca ¼ aparátu. Před aplikací preparátu bylo nutné zastavit stříky

průtočného systému. Aparát tvořily plastové láhve o objemu přesně jeden litr, takže dávkování probíhalo přímo do aparátů pomocí mikropipety (po nadávkování opět dobře promíchat celý roztok skleněnou tyčinkou). Doba expozice rovněž stanovena na 1 hodinu a 30 minut.

Jako hlavní testovaný přípravek byl zvolen preparát Persteril, a to v dávkách  $0,003 \text{ ml.l}^{-1}$ ,  $0,006 \text{ ml.l}^{-1}$ ,  $0,015 \text{ ml.l}^{-1}$ ,  $0,030 \text{ ml.l}^{-1}$  pro průtočný i recirkulační systém. Preparát byl v recirkulaci aplikován na 20 litrů vody a vždy s opakováním na 5-ti koších. Byly použity dávky 0,06 ml (koše 1-5), 0,12 ml (koše 6-10), 0,30 ml (koše 11-15) a 0,60 ml (koše 16-20) Persterilu na toto množství vody. Dále byla v recirkulaci použita dvacetinásobná dávka Persterilu, tzn.  $0,06 \text{ ml.l}^{-1}$ , která byla aplikována pouze na 1 koš (koš 37). Dalšími používanými přípravky (sloužícími jako kontrola) byly přípravky Acriflavin (koše 21-25) a ESHA 2000 (koše 26-30). U Acriflavinu byla použita jednorázová dávka  $0,1 \text{ ml.l}^{-1}$ , tzn., že na 20 litrovou koupel odpovídala dávka preparátu 2 ml. U přípravku ESHA 2000 byla použita jednorázová dávka 10 kapek na 20 litrů. Na koše 31-36 byly jako kontrola nasazeny jikry bez ošetření.

Tabulka č. 4: Ředění Persterilu<sup>®</sup> (dle doc. Máchové), Acriflavinu a eSHy 2000 pro koupele jiker

Persteril <sup>®</sup>	objem	1000 l	100 l	10 l
	dávka	3 ml	0,3 ml	0,03 ml
	aplikace	jednorázově		
eSHa 2000	objem	10l	10l	10l
	dávka	5 kapek	2,5kapky	2,5kapky
	aplikace	1. den	2. den	3. den
Acriflavin	objem	10l		
	dávka	1ml		
	aplikace	jednorázově		

U průtočného systému byla prováděna koupel s 3 opakováními kvůli nízké kapacitě pokusného aparátu. Nejprve byl celý systém důkladně omyt a očištěn (jednotlivé PET-lahve, zprůchodnění stříků, propláchnutí a vyčištění odvodných žlabů). Po dokonalé očištění byly PET-lahve našroubovány na průtočný systém a pomocí svorek byla připevněna hadice spojující vodovod s odchovným systémem. Persteril byl použit ve shodných dávkách jako v recirkulaci – láhve 1-3/ $0,003 \text{ ml.l}^{-1}$ , láhve 4-6/ $0,006 \text{ ml.l}^{-1}$ ,

láhve 7-9/0,015 ml.l<sup>-1</sup>, láhve 10-12/0,030 ml.l<sup>-1</sup>. Preparáty Acriflavin a ESHA 2000 byly rovněž aplikovány ve shodných dávkách jako v recirkulaci, tzn. Acriflavin v dávce 0,1 ml.l<sup>-1</sup> (láhve 13-15) a u přípravku ESHA 2000 (láhve 16-18) byla vzhledem ke špatně dávkovatelnému množství odhadnuta dávka půl kapky na litr. Láhve 19 a 20 sloužily jako kontrola bez ošetření.

Hodnocení probíhalo ve fázi kulení jiker. Byla sledována zaplísňenost jiker a kvalita již vykuleného embrya. Vždy byl hodnocen jednotlivý koš a to tak, že celý obsah byl přelit do bílého lavoru a posléze subjektivně hodnocen podíl zaplísňených ku zdravým jikrám a zároveň byla monitorována početnost kvalita embrya, tzn. malformovaných, zdravých, živých, či mrtvých jedinců (viz. foto v příloze). Takto vyhodnocené koše byly procenticky zaznamenávány a konkrétní čísla z jednotlivých systémů odchovu, jsou uvedeny ve výsledcích. Toto platí jak pro recirkulační, tak pro průtočný systém odchovu.

## 4 Výsledky a diskuse

### 4.1. Recirkulační systém odchovu

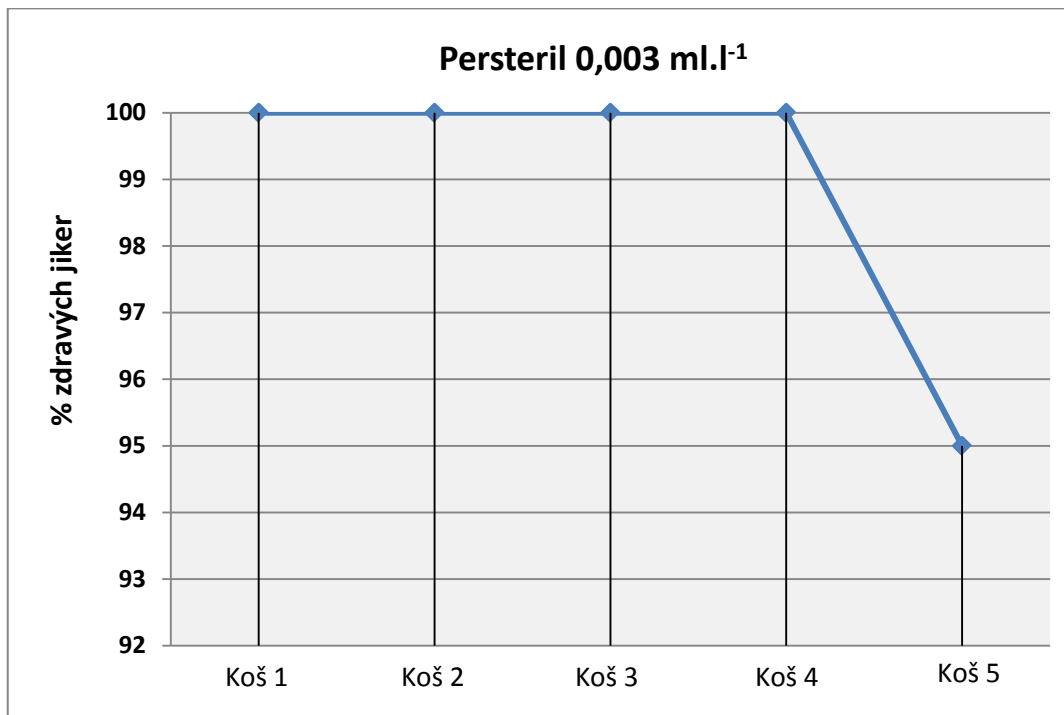
Po dokončení lázně byly jikry v košíčkách nasazeny na recirkulační systém a v této chvíli se nechaly dále inkubovat. Dne 28. 5. 2010 (tzn. po 8 dnech) byly jednotlivé košíčky s vykuleným embryem a s jikrami analyzovány. Obsah košíčku byl přemístěn do bílého lavoru a následně probíhalo subjektivní hodnocení kvality embrya, či zbylých jiker. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách.

Tab. č. 5: Hodnocení koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,03 ml.10 l<sup>-1</sup>

Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
1	95% jiker vykuleno, bez malformací	100%	0%	nízké ztáty, nenalezena ani jedna zaplísňená jikra
2	> 90 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	více nevykulených jiker, ale nezaplísňených
3	> 90 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	více nevykulených jiker, ale nezaplísňených
4	95% vykuleno, bez malformací	100%	0%	bez nálezu plísňového onemocnění nevykulených jiker
5	95% vykuleno, bez malformací	> 95 %	nalezena 1 zaplísňená jikra	okolní jikry bez nálezu plísňové infekce

Z tabulky vyplývá, že většina jiker byla již vykulených. Embryo vykazovalo dobré výsledky, jedinci s malformacemi páteře, či s jinými negativními znaky nebyli nalezeni a rovněž nebyli nalezeni jedinci odumřelí. Zbývající nevykulené jikry vykazovaly dobré známky kvality, přičemž ze všech 5 košů byla nalezena pouze 1 zaplísňená jikra. Ani zbytky jikerných obalů na dně koše rovněž nevykazovaly známky zaplísnění. Tato koncentrace lze označit jako nejúspěšnější jak z hlediska kvality embrya, tak kvality zbývajících nevykulených jiker.

Graf č. 1: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně  $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$



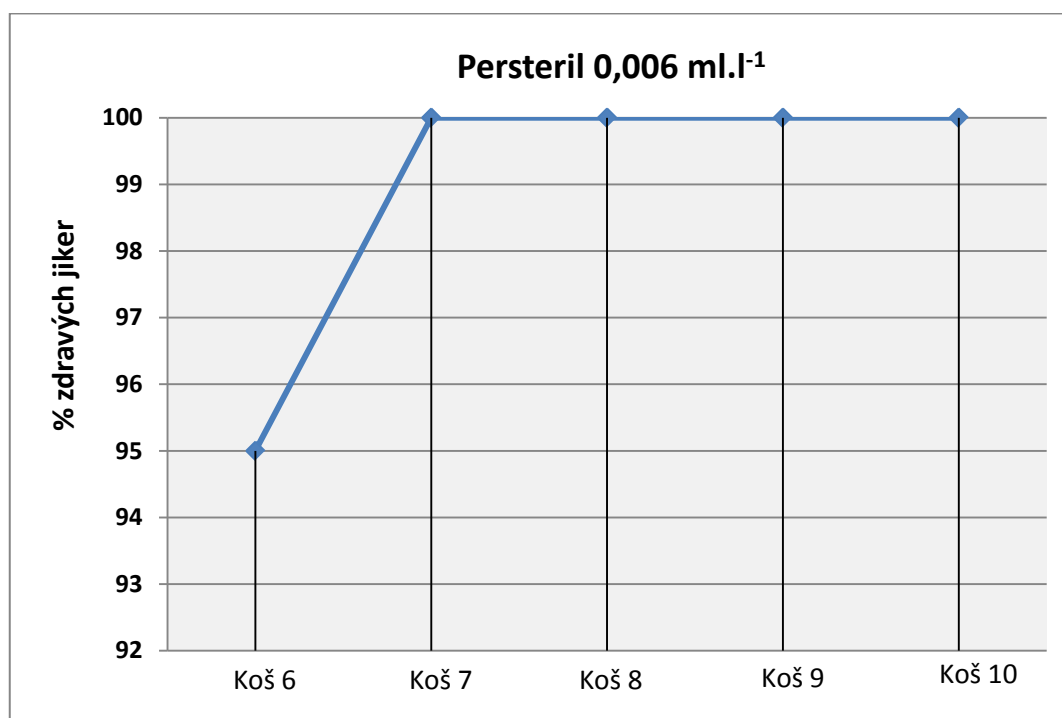


Tab. č. 6: Hodnocení koupele v Pesterilu o koncentraci lázně 0,06 ml.10 l<sup>-1</sup>

Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
6	cca 90% vykuleno, bez malformací	> 95 %	několik zaplísněných jiker v chomáči	i tak velmi nízké ztáty
7	> 90 % vykuleno, jedinci s vadou páteře	100%	0%	několik jedinců s malformací páteře
8	> 90 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	více nevykulených jiker, ale nezaplísněných
9	> 95 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	bez nálezu plísňového onemocnění nevykulených jiker
10	> 95 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	bez nálezu plísňového onemocnění nevykulených jiker

Dvojnásobná koncentrace oproti zvolenému standardu se jeví také poměrně dobře, avšak je zde už patrný rozdíl v kvalitě embrya, kdy u několika jedinců byly viditelné malformace a v koši č. 6 bylo nalezeno několik zaplísněných jiker v chomáči. Přesto vysoké přežití embrya, dobrá kvalita jiker a vysoká líhivost.

Graf č. 2: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,06 ml.10 l<sup>-1</sup>

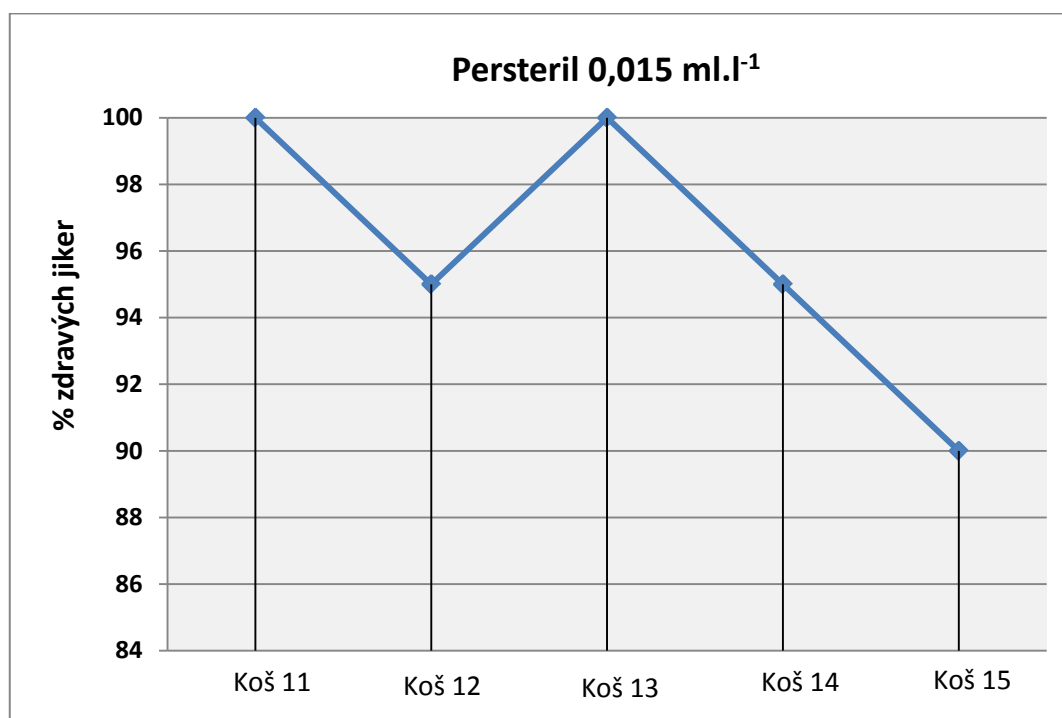


Tab. č. 7: Hodnocení koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,15 ml.10 l<sup>-1</sup>

Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	poznámka
11	90% vykuleno, vada páteře u několika jedinců	100%	0%	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených jiker
12	> 95 % vykuleno, bez malformací	> 95 %	< 2%	několik jiker zaplísněných, i tak velmi nízké ztáty
13	90 % vykuleno, malformace	100%	0%	více nevykulených jiker, ale nezaplísněných
14	90 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
15	90 % vykuleno, malformace	> 90 %	> 5 %	více zaplísněných jiker na dně koše

Pětinásobná koncentrace již vykazuje horší výsledky. U více jedinců byly pozorovány malformace páteře a ve většině košů byly nalezeny nějaké zaplísněné jikry, přičemž v koši č. 15 bylo nalezeno více chomáčů s plesnivými jikrami a na dně koše byly zaplísněné zbytky jikerných obalů.

Graf č. 3: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,15 ml.10 l<sup>-1</sup>

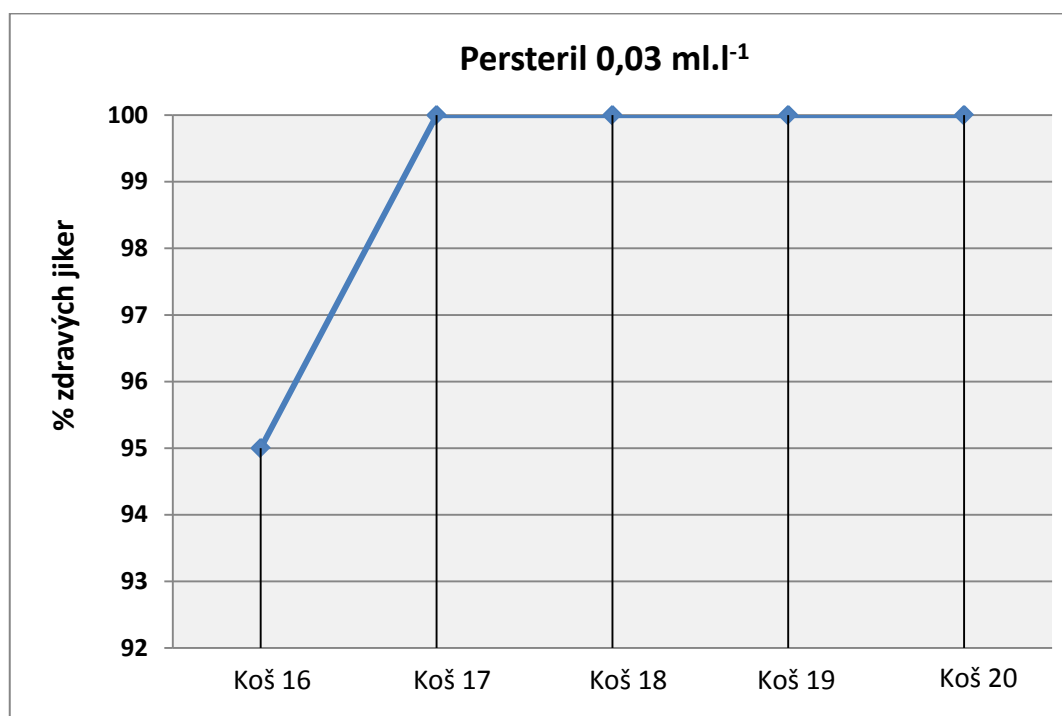


Tab. č. 8: Hodnocení koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,3 ml.10 l<sup>-1</sup>

Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
16	90% vykuleno, vada páteře u několika jedinců	> 95 %	několik jiker zaplísněných	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených jiker
17	> 95 % vykuleno, malformace	100%	0%	i tak velmi nízké ztáty
18	95 % vykuleno, malformace	100%	0%	několik nevykulených jiker, ale nezaplísněných
19	95 % vykuleno, malformace	100%	0%	několik nevykulených jiker, ale nezaplísněných
20	95 % vykuleno, bez známek malformací	100%	0%	několik nevykulených jiker, ale nezaplísněných

Desetinásobek standardu vychází co se týče úspěšnosti kupodivu o něco lépe než pětinasobek. Bylo zde pozorováno méně zaplísněných jiker. Co se týče malformací, jsou zde pozorovatelné téměř v každém koši. Vysoká koncentrace Persterilu zřejmě způsobuje vady páteře u embrya.

Graf č. 4: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,30 ml.10 l<sup>-1</sup>

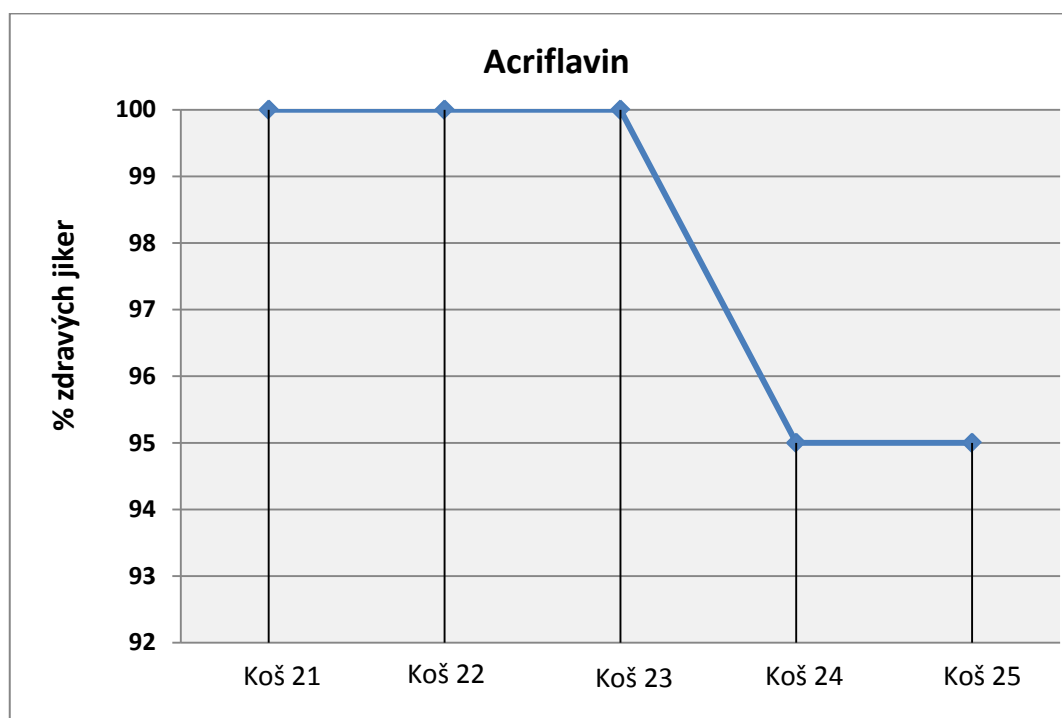


Tab. č. 9: Hodnocení koupele v Acriflavinu o koncentraci lázně 1 ml.l<sup>-1</sup>

21	90% vykuleno, malformace	100%	0%	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených jiker
22	> 95 % vykuleno, bez malformací	100%	0%	několik nevykulených jiker, ale nezaplísněných
23	90 % vykuleno, malformace	100%	0%	více nevykulených jiker, ale nezaplísněných
24	90 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
25	90 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker

U Acriflavinu byly pozorovány rozkolísané výsledky, v koši 21 a 22 nebyly pozorovány zaplísněné jikry a pouze v koši 21 byly nalezeny malformace, avšak v zanedbatelném rozsahu. V koši 23 byly pozorovány malformace o něco vyšší a v koších 24 a 25 byl pozorován jak vyšší podíl malformací, tak byly nalezeny chomáče zaplísněných jiker. Ošetření jiker Acriflavinem lze označit za průměrné, navíc je zde problém se zanecháváním reziduí ve vodě. Nedochozí ovšem k velkým ztrátám na embryu, či na jikrách a líhivost je také velice dobrá.

Graf č. 5: Úspěšnost koupele v Acriflavinu o koncentraci lázně 1 ml.10 l<sup>-1</sup>



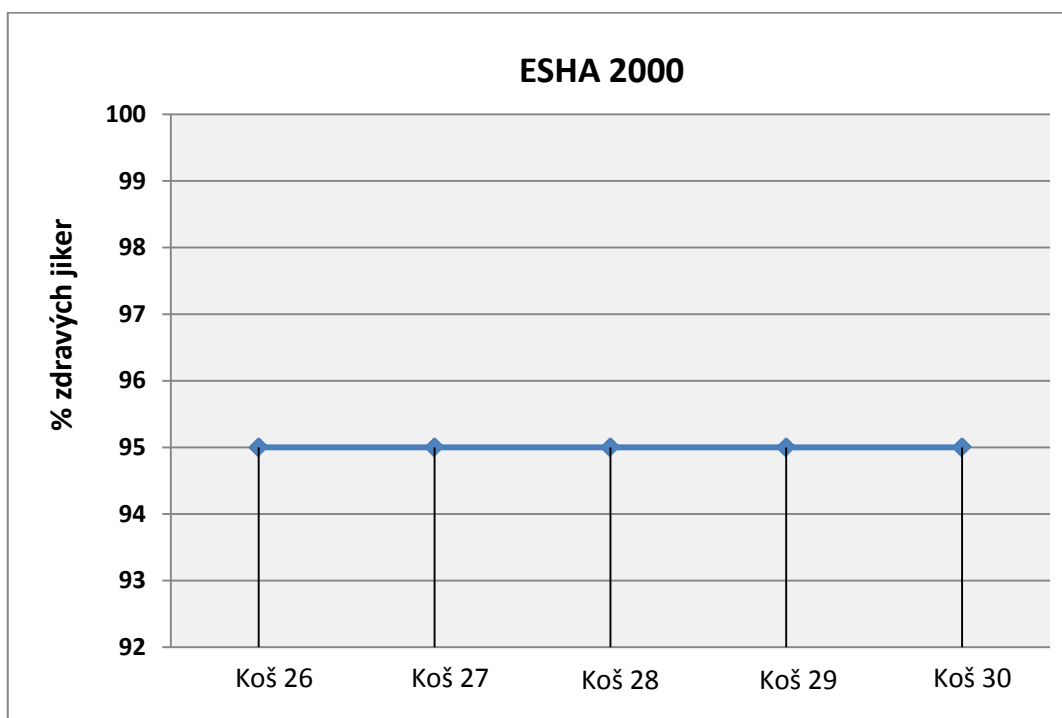


Tab. č. 10: Hodnocení koupele v přípravku ESHA 2000 o koncentraci lázně 5 kapek na 10 litrů

Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	poznámka
26	< 80% vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených a zaplísněných jiker
27	> 80 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených a zaplísněných jiker
28	80 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	několik jedinců s malformací páteře, větší množství nevykulených a zaplísněných jiker
29	> 80 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
30	80 % vykuleno, malformace	> 95 %	< 2%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker

ESHA2000 se jeví ze všech používaných přípravků nejhůře. V každém koši byly pozorovány zaplísněné jikry, přičemž byl pozorován větší podíl nevykulených a zaplísněných jiker. Rovněž byly pozorovány malformace embrya. Je nutno poznamenat, že v pokusu byla použita jednorázová dávka 5 kapek na 10 litrů, což mohlo způsobit tyto výsledky. Negativním faktorem pro širší použití tohoto přípravku v praxi je také jeho vysoká cena.

Graf č. 6: Úspěšnost koupele v preparátu ESHA 2000 o koncentraci lázně 5 kapek na 10 litrů

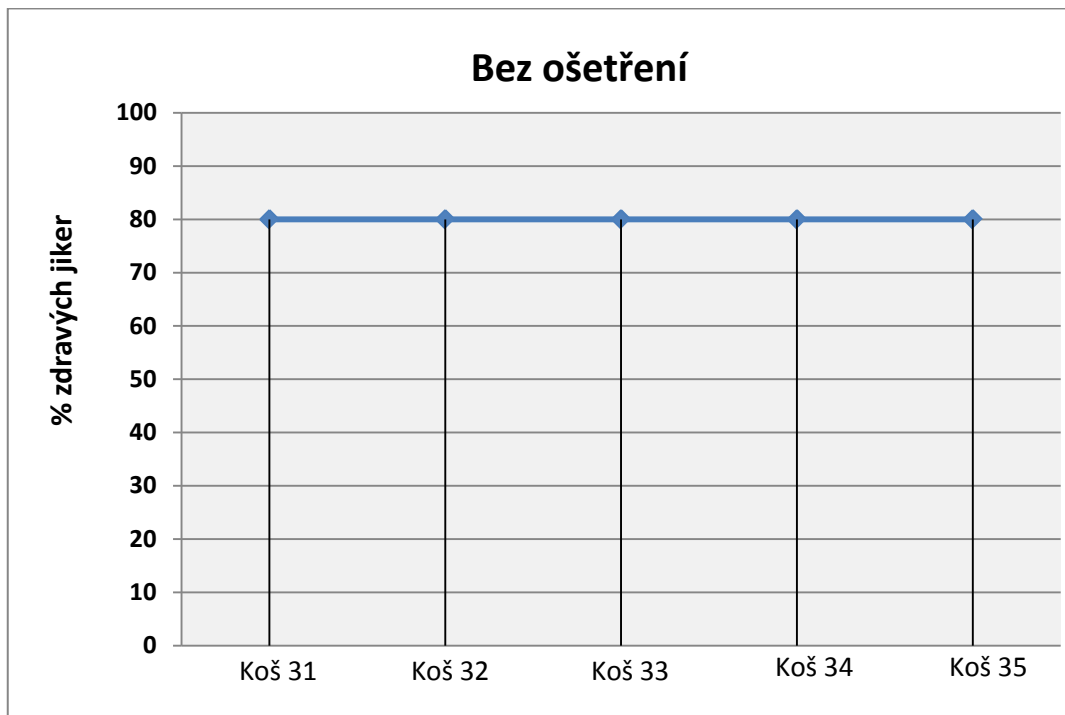


Tab. č. 11: Hodnocení koupele jiker bez ošetření

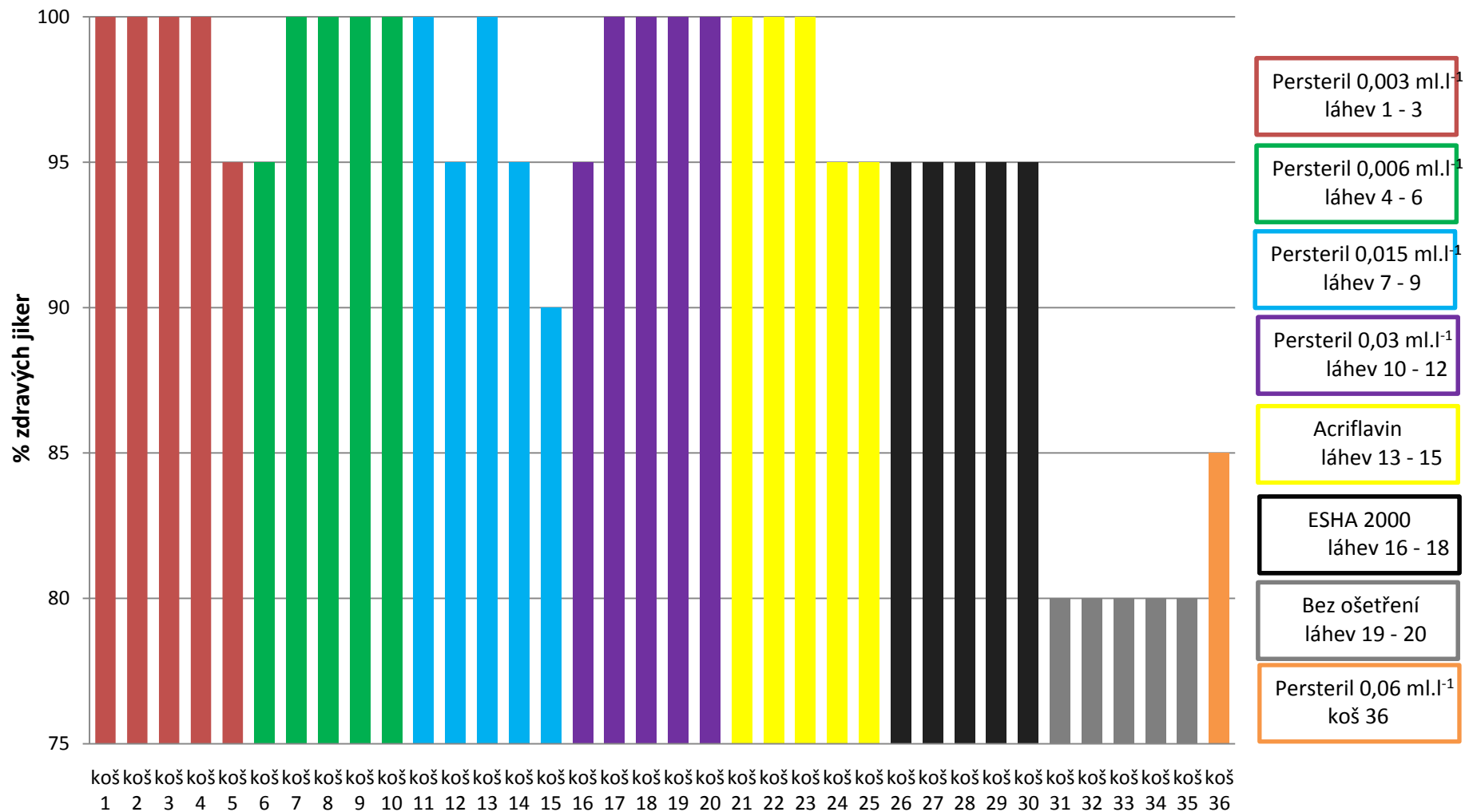
Koš	Embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	poznámka
26	cca 70% vykuleno, malformace, nižší podíl rozplavaného embrya	> 80 %	< 10%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
27	cca 75% vykuleno, malformace, nižší podíl rozplavaného embrya	> 80 %	< 10%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
28	cca 75% vykuleno, malformace, nižší podíl rozplavaného embrya	> 80 %	< 10%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
29	cca 70% vykuleno, malformace, nižší podíl rozplavaného embrya	> 80 %	< 10%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker
30	cca 70% vykuleno, malformace, nižší podíl rozplavaného embrya	> 80 %	< 10%	více nevykulených jiker, několik zaplísněných chomáčů jiker

U košů bez ošetření logicky došlo k nejvyšším ztrátám, na recirkulaci většinou přesahující 50%. Je zřejmé, že bez ošetření se v praxi nedá dosáhnout kvalitních výsledků.

Graf č. 7: Úspěšnost koupele jiker bez ošetření



Souhrnný graf úspěšnosti všech preparátů použitých v pokusu na recirkulačním systému



## 4.2 Průtočný systém odchovu

Teplota vody v daný den byla 11,4 °C, bylo chladno a deštivo a to z hlediska inkubace jiker nebyly vůbec vhodné podmínky. Výsledky byly hodnoceny 4. 6. 2010 (tzn. za 7 dní), kdy část jiker byla vykulených a část těsně před vykulením. Oproti recirkulačnímu systému byly pozorovány mnohem vyšší ztráty a to hlavně z důvodu zaplísnění.

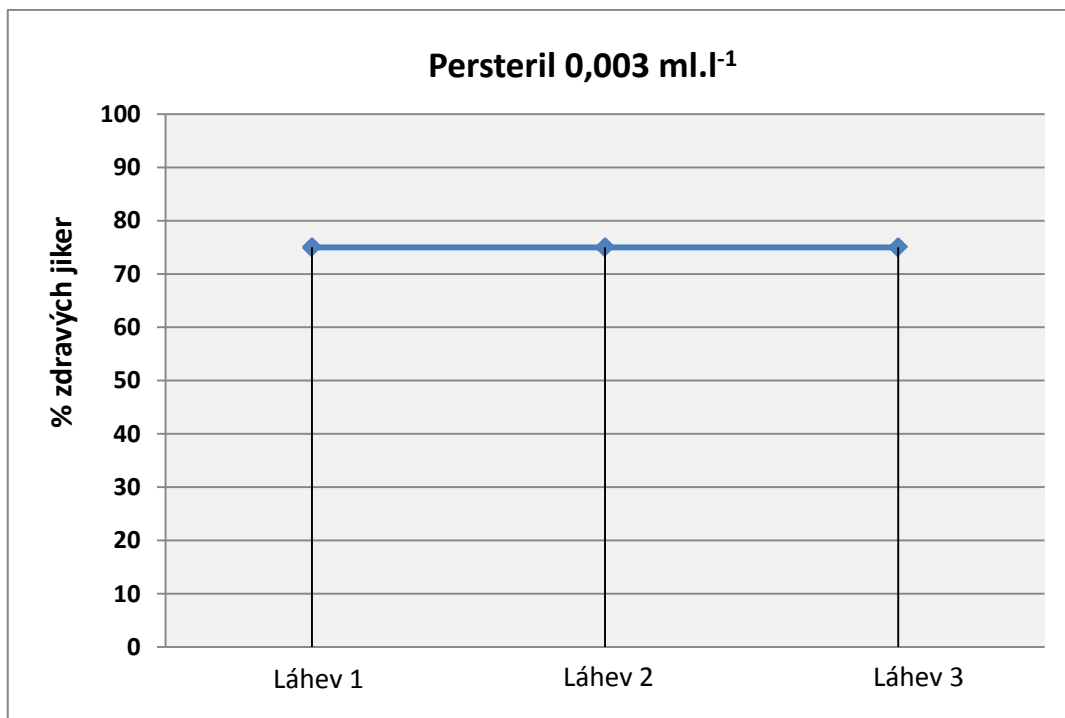
Tabulka č. 12: Hodnocení koupele v Persterilu v průtočném systému o koncentraci 0,003 ml.l<sup>-1</sup>

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
1	50%	75%, většina v očních bodech	25%	vysoké množství zaplísněných jiker v chomáčích
2	50%	75%, většina v očních bodech	25%	vysoké množství zaplísněných jiker v chomáčích
3	50%	75%, většina v očních bodech	25%	vysoké množství zaplísněných jiker v chomáčích

Poměrně vysoké ztráty způsobené hlavně zaplísněním. V lahvi bylo nalezeno několik hrudek zaplísněných jiker, což mohlo být způsobeno jak nedostatečnou kvalitou a teplotou přitékající vody, tak nevhodně stanovenou koncentrací pro daný systém, či nevhodně zvoleným průtokem, kde při příliš nízkém průtoku může být postupem času napadeno více okolních jiker poblíž zdroje nákazy. Střík může být postupem času zanášen i organickými zbytky z jednotlivých lahví, což následně ovlivňuje zmiňovaný

průtok. Embryo vykazovalo ovšem lepší známky kvality bez známek malformací. Zdravé a nevykulené jikry byly povětšinou ve fázi očních bodů. Tato koncentrace se jeví pro průtočný systém jako velmi nízká (nejhorší ze všech koncentrací Persterilu na průtočném systému).

Graf č. 8: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,003 ml.l<sup>-1</sup>



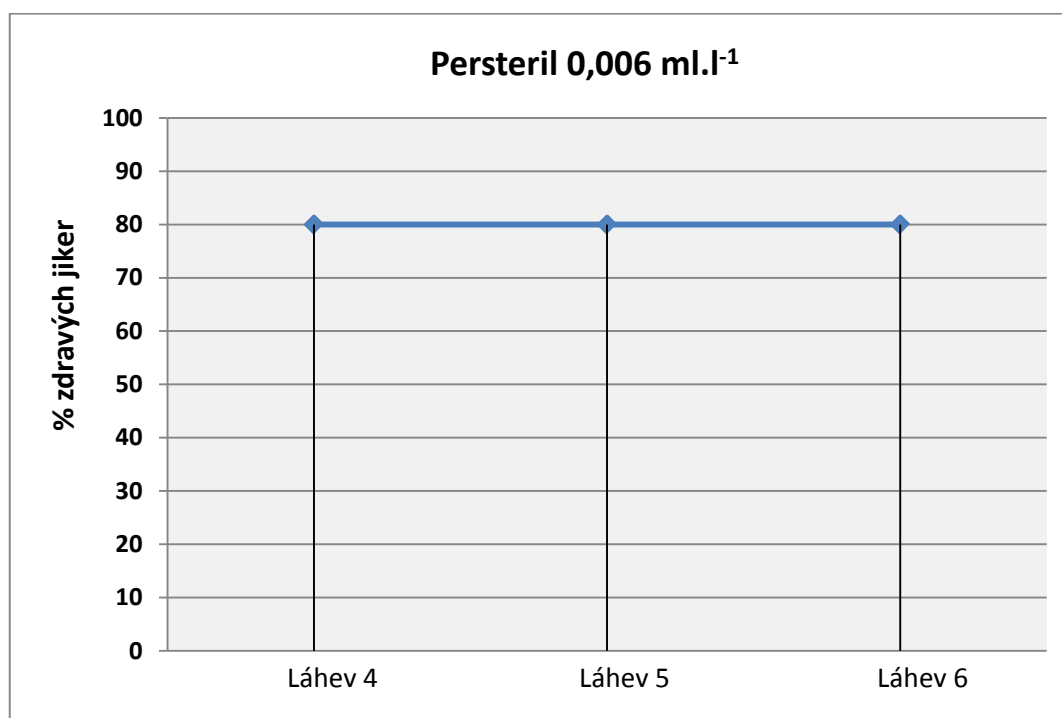
Tabulka č. 13: Hodnocení koupele v Persterilu v průtočném systému o koncentrací 0,006 ml.l<sup>-1</sup>

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
4	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu
5	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu
6	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu

Tato koncentrace Persterilu vykazuje o něco lepší výsledky než koncentrace základní. Bylo monitorováno menší množství zaplísněných jiker a kvalita embrya byla také velmi dobrá. Jako plus lze brát i fakt, že jikry v lahvích měli vysoce vyrovnanou kvalitu ve všech 3 opakování.



Graf č. 9: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,006 ml.l<sup>-1</sup>

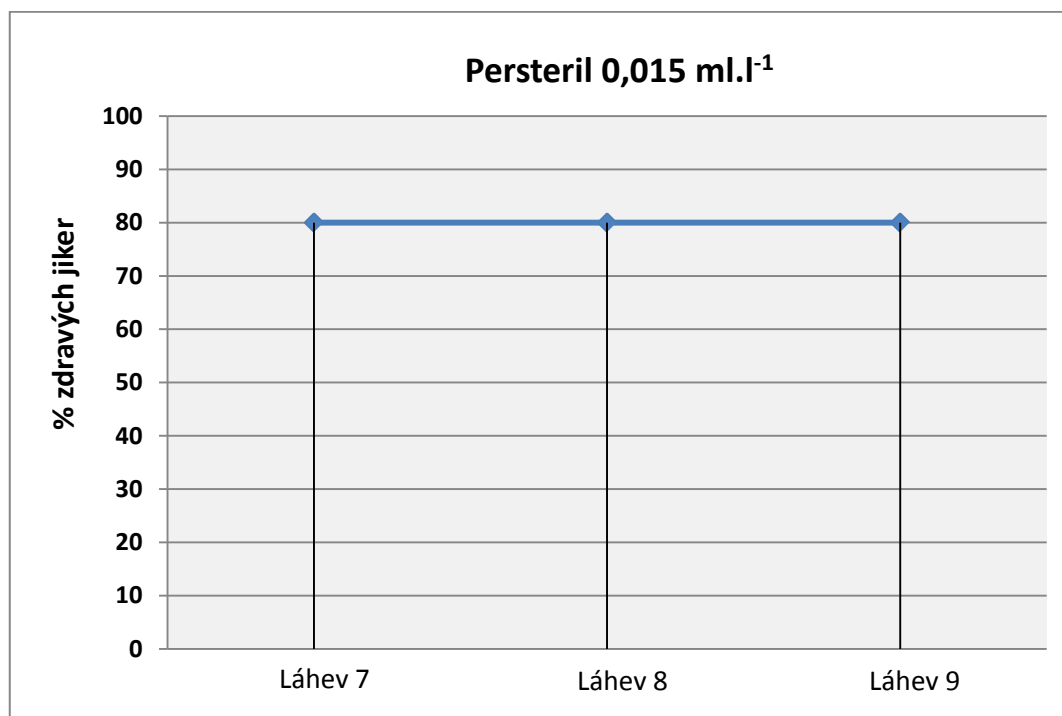


Tabulka č. 14: Hodnocení koupele v Persterilu v průtočném systému o koncentraci 0,015 ml.l<sup>-1</sup>

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
7	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu
8	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu
9	50%	80%, většina očních bodech	20%	vyšší množství zaplísněných jiker, embryo v dobrém zdravotním stavu

Hodnocení této koncentrace je shodné s předešlým, lahve 7, 8 a 9 vzkazovaly téměř shodných parametrů jako lahve 4,5 a 6.

Graf č. 10: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,015 ml.l<sup>-1</sup>

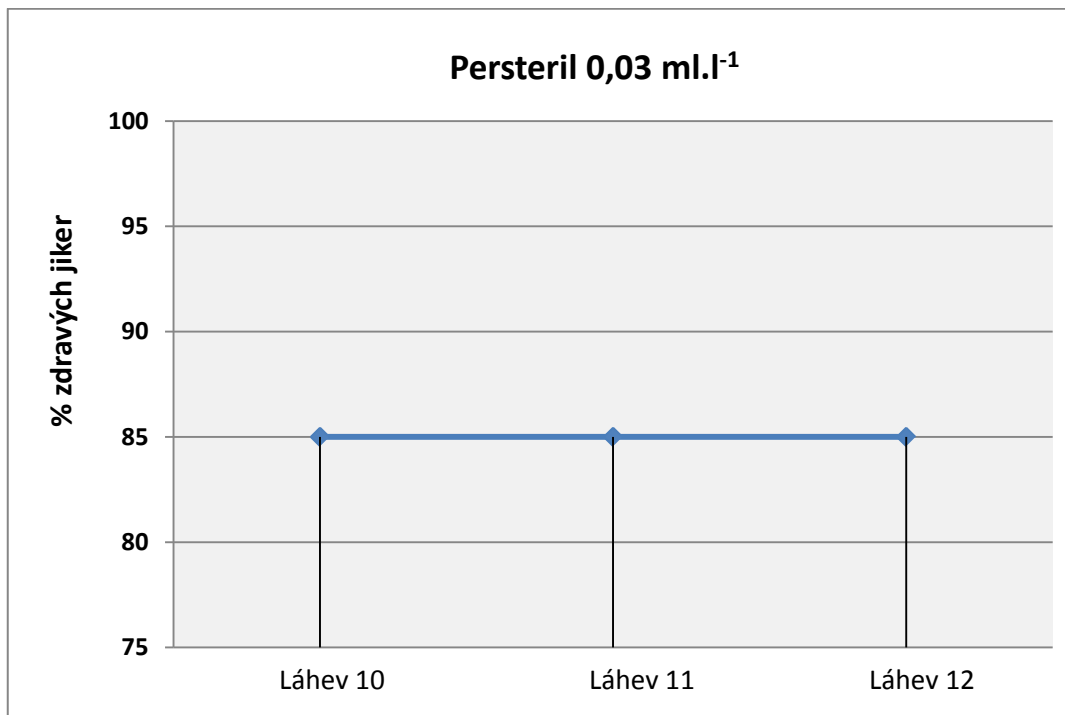


Tabulka č. 15: Hodnocení koupele v Persterilu v průtočném systému o koncentrací 0,03 ml.l<sup>-1</sup>

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
10	50%	85%, většina očních bodech	15%	poměrně nízké ztáty, vysoká kvalita embrya a menší zaplísnění jiker
11	50%	85%, většina očních bodech	15%	poměrně nízké ztáty, vysoká kvalita embrya a menší zaplísnění jiker
12	50%	85%, většina očních bodech	15%	poměrně nízké ztáty, vysoká kvalita embrya a menší zaplísnění jiker

Nejvyšší koncentrace Persterilu se jeví kupodivu jako nejlepší v inkubaci jiker v průtočném systému. Byl pozorován větší počet zdravých jiker, přesto i zde docházelo k částečným ztrátám – několik chomáčů zaplísněných jiker. Embryo vykazovalo vysokou kvalitu bez známek malformací. Tato koncentrace se dá doporučit jako nejvhodnější v průtočném systému a rovněž bych doporučil tuto koncentraci provádět v praxi jako krátkodobou 1,5 hodinovou koupel jiker Kapra obecného (*Cyprinus carpio*).

Graf č. 11: Úspěšnost koupele v Persterilu o koncentraci lázně 0,030 ml.l<sup>-1</sup>

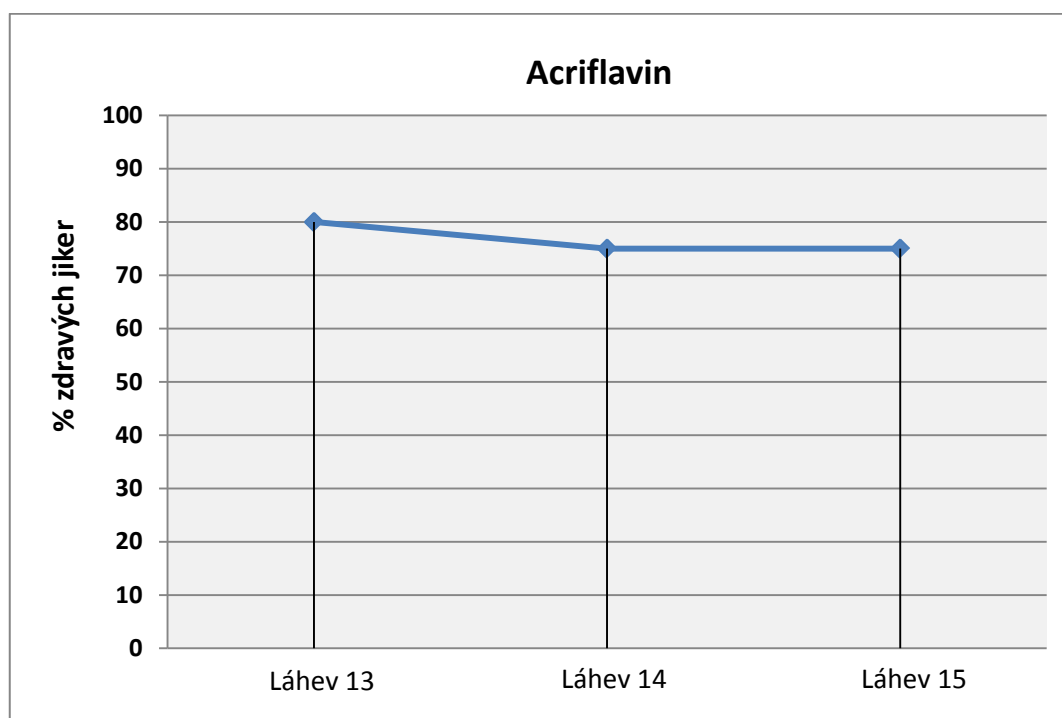


Tabulka č. 16: Hodnocení koupele v Acriflavinu v průtočném systému o koncentraci 0,1 ml.l<sup>-1</sup>

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
13	50%	80%, většina očních bodech	20%	částečné ztráty, v lahvi se tvořily zaplísněné hroudy, embryo v pořádku
14	50%	75%, většina očních bodech	25%	vyšší ztráty, v lahvi se tvořily zaplísněné hroudy, embryo v pořádku
15	50%	75%, většina očních bodech	25%	vyšší ztráty, v lahvi se tvořily zaplísněné hroudy, embryo v pořádku

U Acriflavinu můžeme pozorovat mírně rozkolísané výsledky, avšak výsledné ztráty a kvalita embrya odpovídala průměru, bylo opět pozorováno několik chomáčů zaplísněných jiker a byla monitorována dobrá kvalita embrya. Opět je nutno ovšem poznamenat, že je zde problém se zanecháváním reziduí ve vodě.

Graf č. 12: Úspěšnost koupele v Acriflavinu o koncentraci lázně 0,1 ml.l<sup>-1</sup>



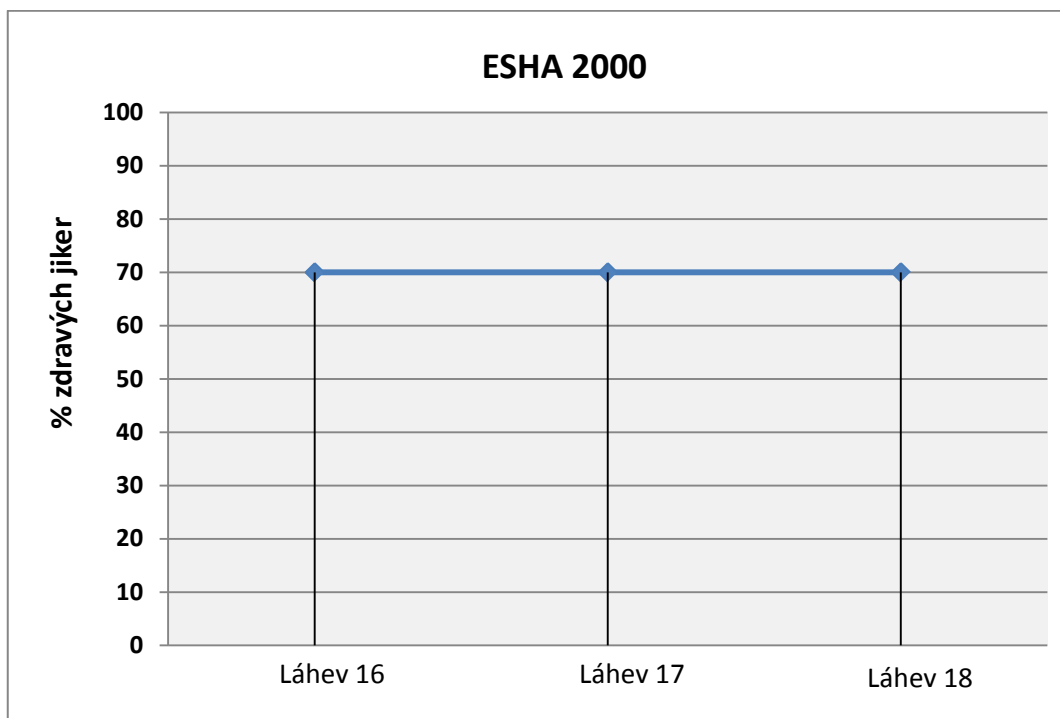
Tabulka č. 17: Hodnocení koupele v přípravku ESHA2000 v průtočném systému o koncentraci 1 kapka na litr jednorázově

číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	Poznámka
16	50%	70%, většina očních bodech	30%	vyšší ztráty, v lahvi se tvořily zaplísňené hroudy, embryo v pořádku
17	50%	70%, většina očních bodech	30%	vyšší ztráty, v lahvi se tvořily zaplísňené hroudy, embryo v pořádku
18	50%	70%, většina očních bodech	30%	vyšší ztráty, v lahvi se tvořily zaplísňené hroudy, embryo v pořádku

ESHA2000 ani v průtočném systému nevykazuje dobré výsledky. Opět byla použita jednorázová dávka 1 kapka na 1 litr, což může mít vliv na konečné výsledky. Kvalita embrya byla ovšem oproti recirkulaci poměrně dobrá. Avšak poměr zaplísňených jiker byl výrazně vyšší než u ostatních preparátů, což nejspíše mohla způsobovat nízká teplota vody v kombinaci s faktem, že ESHA2000 je preparát, který se používá v akvaristice (teploty vody přesahující 20 °C).



Graf č. 13: Úspěšnost koupele v přípravku ESHA 2000 o koncentraci koupele 5 kapek na 10 litrů

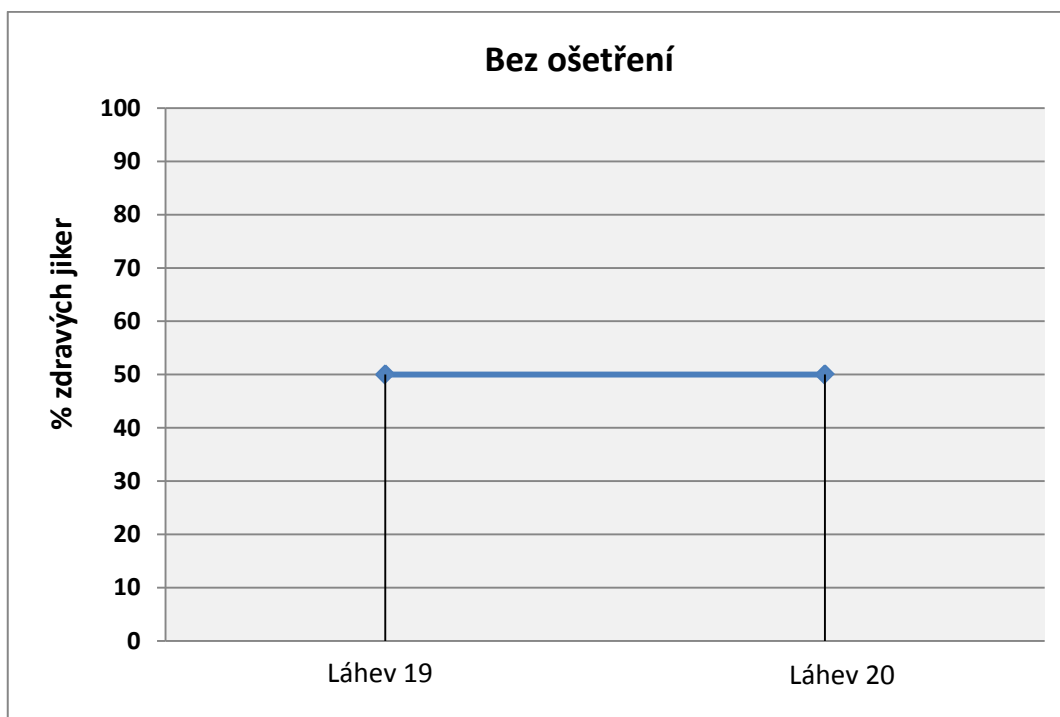


Tabulka č. 18: Hodnocení koupele bez ošetření v průtočném systému

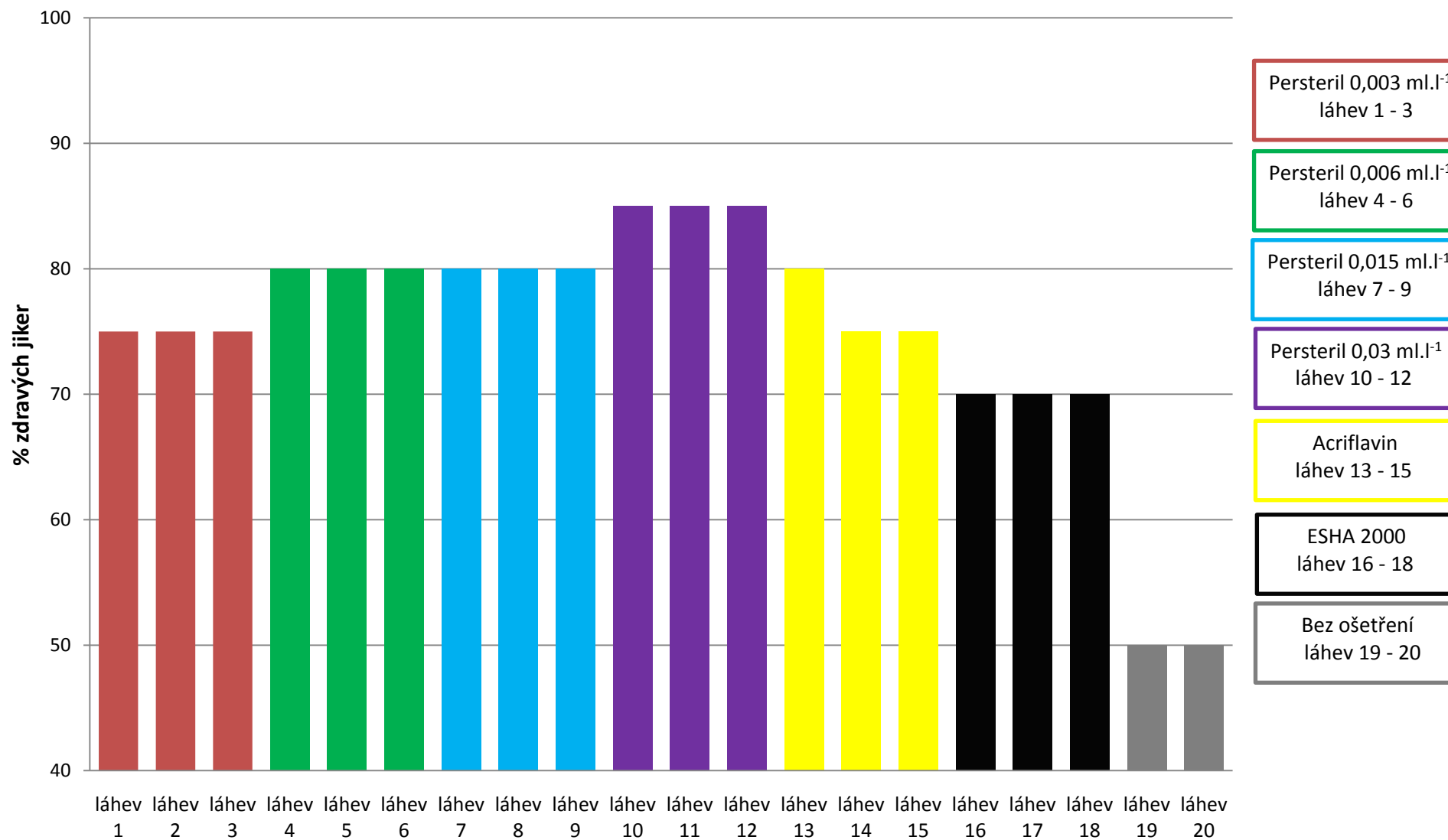
číslo lahve	embryo	% zdravých jiker	% infikovaných jiker	poznámka
19	<40%	50%, většina v očních bodech	50%	velmi vysoké ztráty, velké zaplísněné hroudy jiker, málo vykuleného embrya
20	<40%	50%, většina v očních bodech	50%	velmi vysoké ztráty, velké zaplísněné hroudy jiker, málo vykuleného embrya

Více jak 50 % zaplísněných, logicky nejhorší koše z celého průtočného systému. Také tato kontrola ukazuje, že bez ošetření jiker jsou ztráty velmi vysoké, zvláště ve zhoršených podmínkách inkubace.

Graf č. 14: Úspěšnost koupele jiker bez ošetření



Souhrnný graf úspěšnosti všech preparátů použitých v pokusu na recirkulačním systému



## 5 Závěr

Cílem práce bylo porovnat účinnost a vhodnost užití Persterilu<sup>®</sup> v provozních podmínkách rybí líhně pro prevenci a léčbu vývojových stádií kaprovitých ryb a rovněž účinnost porovnat s dosud užívanými prostředky.

V obou variantách odchovu se Persteril<sup>®</sup> poměrně dobře jeví, zaplísňenost jiker je ve srovnání s ostatními preparáty menší a rovněž nezanechává rezidua ve vodě, respektive se z vody za nějaký čas odpaří (dle koncentrace). Dokonce i 20x násobek optimálně stanovené dávky Persterilu<sup>®</sup> nezpůsobil razantní úhyn jiker ani embryí.

U jiker, nebo popřípadě již vykuleného plůdku, byla monitorována kvalita (tzn. zaplísňení, odumření, malformace, atd.). Hodnocení bylo prováděno subjektivně, výsledky byly odhadovány procenticky. Byly porovnávány podíly zaplísňených a nezaplísňených jiker a taktéž poměr zdravých, či malformovaných embryí ve vztahu ke všem používaným přípravkům.

Je zřejmé, že recirkulační systém vykazuje lepší výsledky, což zapříčinila podstatně lepší kvalita vody díky UV lampě, která zabezpečuje stálou kvalitu vody. Navíc máme v recirkulaci zabezpečenou vodu v bazénu o stálé teplotě. Na druhé straně byl při pokusu důležitý faktor nepříznivé teploty vody v průtočném systému, což jistě zapříčinilo zkreslení dosažených výsledků, jež na průtočném systému byly u všech testovaných přípravků zaznamenány.

Přípravek ESHA 2000 se jeví pro studenovodní koupele jako nevhodný. V obou variantách odchovu vykazoval nejhorší výsledky a rovněž jeho cena není v širším použití ekonomicky výhodná. Tento přípravek byl s nejvyšší pravděpodobností vyvinut jen pro akvarijní účely, kdy teploty lázně v akváriích dosahují teploty vyšší než 20 °C. U Acriflavinu lze pozorovat dosti rozkolísané výsledky, které mohla zapříčinit již zmiňovaná nevhodná inkubační teplota. Lze také konstatovat, že využití Acriflavinu vykazuje průměrné výsledky, takže ukazatele jako líhnivost, zaplísňenost jiker, či kvalita embrya byly v normě a nepřesahovaly standardy.

Nejlepší koncentrace dosažená u prováděných testů byla monitorována u recirkulačního systému v koších č. 1-10, což odpovídá koncentraci Persterilu 0,003-0,006 ml.l<sup>-1</sup>. Tuto koncentraci lze tudíž doporučit jako optimální pro inkubaci jiker kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v recirkulačním systému odchovu. Až na pár kusů jiker byla tato koupel naprosto bez plísňových nákaz a rovněž byla pozorována výborná

kvalita embrya. U průtočného systému byly výsledky logicky o něco horší a paradoxně zde nejlépe vychází 10x násobná koncentrace (láhve 10-12) oproti zvolené koncentraci optimální, což odpovídá koncentraci  $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$ . V této koncentraci byly pozorovány nejnižší ztráty zaplísněním a rovněž kvalita embrya byla nejvyrovnanější ze všech použitých preparátů. U vyšších koncentrací byly pozorovány vyšší malformace páteře embrya.

Je nutno poznamenat, že tento pokus by měl být prováděn za optimálních teplot. Také by výsledky zpřesnilo každodenní kontrolování aparátů a odstraňování zaplísněných jiker (to ovšem výsledky také zkresluje, protože v praxi toto v podstatě nemůže líhnař zajistit). Bylo by vhodné najít vhodnou metodiku a ještě pokus rozšířit o několik přípravků používaných v různých oblastech potlačení mykotických nákaz s přihlédnutím na neoptimálnější ekologické složení preparátu.

#### Doporučení pro praxi:

- Recirkulační systém odchovu – dávka pro kopel v Persterilu  $0,003-0,006 \text{ ml.l}^{-1}$
- Průtočný systém odchovu – dávka pro koupel v Persterilu  $0,015-0,030 \text{ ml.l}^{-1}$

## 6 Seznam literatury

- 1) Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1997. Nemoci sladkovodních ryb. Informatorium. Praha
- 2) Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. Rybníkářství. Informatorium. Praha
- 3) Frank, S., 2000. Sladkovodní akvaristika. OTTOVO nakladatelství. Praha
- 4) Gela, D., Kocour, M., Flajšhans, M., Rodina, M., Beránková, P. a Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Edice Metodik VÚRH č. 99
- 5) Hamáčková, J.; Kouřil, J., 1997. Laboratory tests of a sensitivity of eight fish species eggs upon the antifungal baths in malachite green and iodine-detergent (Wescodyne and Jodisol) solutions. Pol. Arch. Hydrobiol. (Fish Reproduction '96), Vol. 44, č. 1-2, s. 247-260.
- 6) Karzung, B.G., 1995. Základní a klinická farmakologie. H & H, Jinočany, s. 728.
- 7) Kocman, J., Čupera, Z., 1997. Vademecum veterinárních přípravků. Strategie, Praha.
- 8) Kolářová, J., Velišek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2007. Anestetika pro ryby. Edice metodik, VÚRH, Vodňany, 77, 3-19.
- 8) Kouřil, J., Svobodová, Z., Vykusová, B., Hamáčková, J., 1984. Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice Metodik, Vodňany, VÚRH, č.15
- 9) Kouřil, J., Hamáčková, J., 1992. Citlivost jiker kapra obecného (*Cyprinus carpio*), línaobecného (*Tinca tinca*), sumce velkého (*Silurus glanis*) a sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) ke koupelím v roztocích malachitové zeleně a Wescodyne v průběhu inkubace. In: Reprodukce ryb '92. VÚRH, Vodňany, s. 137-141.
- 10) Kouřil, J., Hamáčková, J., 1994a. The Sensitivity of Tench Eggs and Larvae (*Tinca tinca* L.) to Preventive Antimycotic, Antibacterial and Antiparasitic Baths. In: Flajšhans, M. (ed.): International Workshop on Biology and Culture of the Tench (*Tinca tinca* L.). VÚRH, Vodňany.
- 11) Kouřil, J., Hamáčková, J., Szlaminska, M., 1994b. The Sensitivity of Eggs and Larvae of *Silurus glanis* and *Clarias gariepinus* to Preventive Antimycotic and

Antiparasitic Short-term Baths. In: International Workshop on the Biological Bases for Aquaculture of *Siluriformes*. Montpellier, s. 125.

12) Kouřil, J., Hamáčková, J., 1995. Vliv teploty vody na citlivost jiker kapra obecného a sumce velkého k preventivním antimykotickým koupelím v roztocích jododetergentního přípravku Wescodyne. In: Toxicita a biodegradabilita látek ovlivňujících vodní prostředí, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany, s. 156-160.

13) Kouřil, J., Hamáčková, J., Kozák, P., 1996. Účinek opakovaných koupelí v roztocích malachitové zeleně, Wescodyne a Jodisolu na líhnivost jiker štiky obecné, kapra obecného a karasa zlatého. Bulletin VÚRH Vodňany 1, s. 16-25.

14) Kouřil, J., Hamáčková, J., 1998. Použití Jodisolu k prevenci mykóz jiker některých kaprovitých a dalších druhů ryb. Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Jihočeské univerzity, Vodňany

15) Leitritz, E., Lewis, E.C., 1976. Trout and Salmon Culture (Hatchery Methods). Fish. Bull. Calif. Dep. Fish Game 164, s. 197.

16) Liltved, H., 2003. Dezinfekce vody v akvakultuře. Faktory ovlivňující fyzikální a chemickou inaktivaci mikroorganismů. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech. ISBN 80-85887-45-2  
Lindesjö, E., Thulin, J., 1994. Histopathology of Skin and Gills of Fish in Pulp Mill Effluents. Diseases of Aquatic Organisms 18, s. 81-93.

17) Pankhurst, N.W. 1998. Reproduction. In: Biology of farmed fish (ed. Blafil, K.D, Pickering, A.D). Academy Press, Sheffield

18) Stoskopf, M.C., 1993. Fish Medicine. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.

19) Svobodová, Z. et al., 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN, Praha

20) Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, S., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. Informatorium Praha.

21) [www.persteril.cz](http://www.persteril.cz)

22) [http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril\\_36.pdf](http://www.proxim-pu.cz/bezplist/prumysl/persteril_36.pdf)

## 7 Přílohy

### Použité zkratky:

FROV JU – Fakulta rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity

Sdružení DDD - sdružení pracovníků dezinfekce, dezinfekce a deratizace ČR

ÚSKVBL – Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

LC50 – letální koncentrace, způsobující úhyn, nebo imobilizaci 50 % testovaných organismů

IC50 – koncentrace testovaného vzorku, která způsobí 50 % inhibici růstu kořene hořčice bílé ve srovnání s kontrolou

EC50 - efektivní koncentrace testovaného vzorku, která způsobí úhyn, nebo imobilizaci 50 % testovaných organismů

### Fotogalerie:

Fotografie č. 1: Vaničky s připravenou lázní pro koupele jiker v košíčkách





(Fořt®)

2010)  
Fotografie č. 2: Průtočný systém



(Fořt<sup>®</sup> 2010)

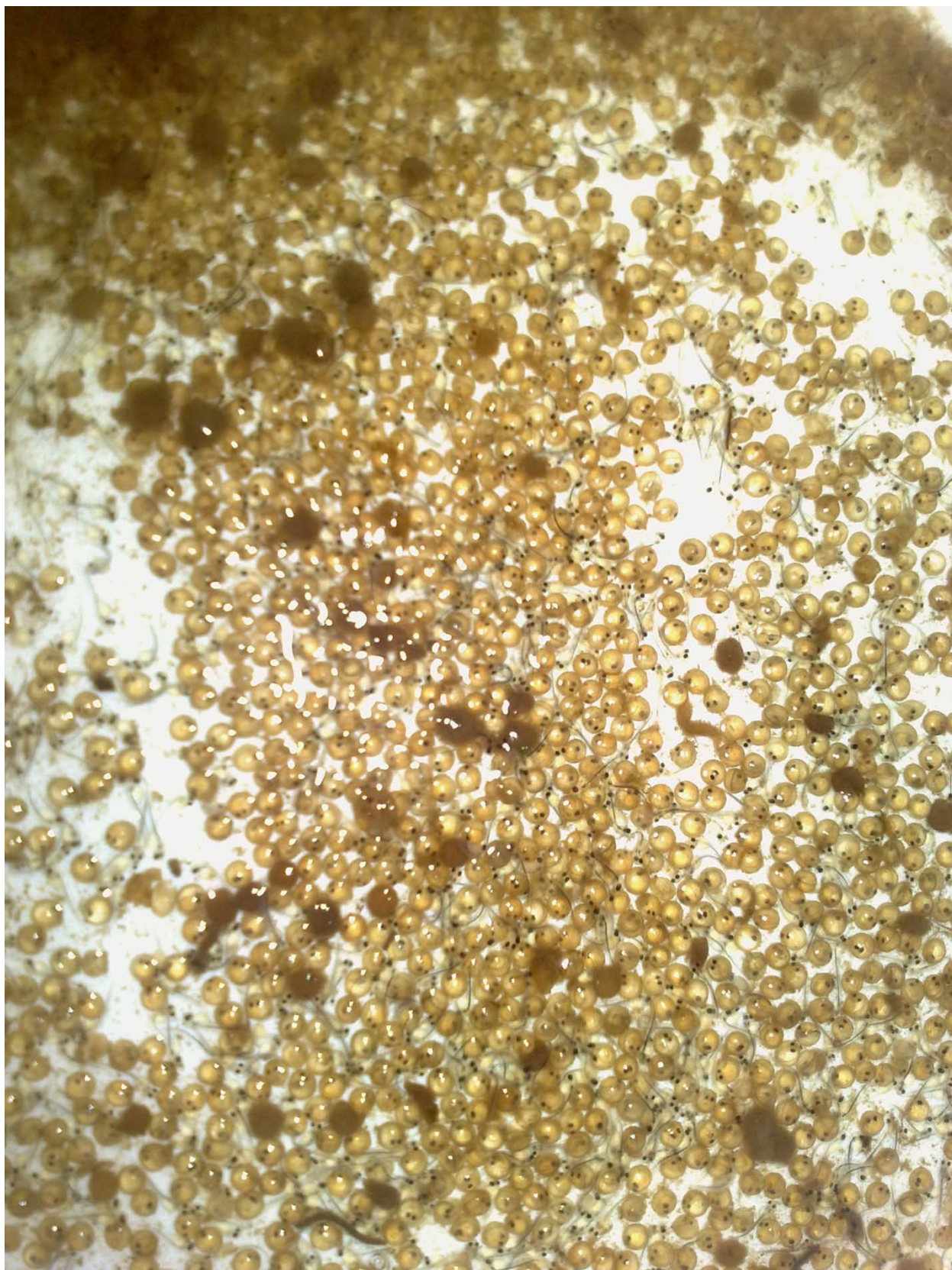
Fotografie č. 3: Recirkulační systém s tzv. „košíčky“ (ilustrační foto)



2010)

(Fořt®)

Fotografie č. 4: Detail jiker (popř. vykulených embryí) ve fázi subjektivního hodnocení zaplísňenosti (popř. malformací u embryí)



(Fořt, 2010)

## ABSTRACT

Persteril<sup>®</sup> (*Acidum peraceticum*) is a trademark used for a disinfectant with peracetic acid as an active ingredient. It is highly effective biocide and has extensive application possibilities with regard to environmental friendliness, it also has the widest range of disinfection efficacy. The practical part took place in the Genetic centre hatchery at the FROV JU in Vodnany. Persteril<sup>®</sup> was used for Short-time bath followed by rearing roe in the recirculating system and for short-time bath followed by rearing roe in the flow system. Both versions are breeding quite well; Persteril<sup>®</sup> detects fungal infection of fish roe in comparison with other liquids, as well as it leaves smaller or no residue in the water or out of the water until the evaporation (according to the concentration).

Key words: biocide, Persteril<sup>®</sup> , short-time bath , recirculating system , flow system , fungal infection

Persteril<sup>®</sup> (*Acidum peraceticum*) je originální značka užívaná pro dezinfekční prostředek s kyselinou peroctovou jako aktivní složkou. Je vysoce efektivním biocidem a jeho extenzivní použití neškodí životímu prostředí a také má nejširší spektrum dezinfekční účinnosti. Praktická část byla prováděna na líhni Genetického centra FROV JU ve Vodňanech. Persteril byl použit v krátkodobé koupeli s následným odchovem jiker v recirkulačním systému a průtočném systému. Obě varianty odchovu se poměrně dobře jeví ; Persteril detekuje plísňové infekce jiker v porovnání s ostatními preparáty a navíc nezanechává ve vodě rezidua, respektive se z vody za nějaký čas odpaří (v závislosti na koncentraci).

Klíčová slova: biocid, Persteril, krátkodobá koupel, recirkulační systém, průtočný systém, plísňové onemocnění