

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství

---



**Vodní bezobratlí jako mezipřenositelé parazitů ryb**  
Diplomová práce

*Vedoucí práce:*  
prof. Dr. Ing. Jan Mareš

*Vypracovala:*  
Bc. Veronika Brumovská

---

Brno 2017



## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Veronika Brumovská**  
Studijní program: Zootechnika  
Obor: Rybářství a hydrobiologie  
Název tématu: **Vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb**  
Rozsah práce: 50-60

### Zásady pro vypracování:

1. Studentka vypracuje rešerši na téma vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb. Pozornost bude věnována především mechovkám (Bryozoa), které jsou potenciálními přenašeči závažných rybích parazitů rybmerek (Myxozoa).
2. Cílem práce bude vytvoření a ověření metodiky pro kultivaci mechovek (Bryozoa) v laboratorních podmínkách. Jako modelový druh bude použita mechovka vykrojená (*Plumatella emarginata*), která se v ČR vyskytuje jak v přirozených podmínkách, tak i v rybochovných zařízeních.
3. Dalším cílem práce bude sledování a popsání životních cyklů vybraných druhů mechovek v přirozených podmínkách. Ve dvou až tří týdenních intervalech budou odebrány vzorky mechovek na dvou lokalitách, kde byla v minulosti prokázána nákaza parazitem *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Malacosporea).
4. Dalším cílem práce bude zjištění optimálního způsobu detekce rybmerek v hostiteli (ryby, mechovky). Rybmorky způsobují v chovných zařízeních ale i u volně žijících lososovitých ryb závažné onemocnění PKD (proliferativní onemocnění ledvin (proliferative kidney disease), které často v intenzivních chovech způsobuje vysokou úmrtnost ryb a velké ekonomické ztráty.
5. Zpracování a vyhodnocení získaných dat. Vyhodnocení a stanovení ideálních podmínek pro laboratorní chov mechovek. Dále pak zhodnocení vlivu lokálních podmínek na životní cykly mechovek a porovnání se životními cykly mechovek chovaných v laboratoři.

Seznam odborné literatury:


1. SEDLÁK, E. *Zoologie bezobratlých*. 2. vyd. Brno: Masarykova univerzita – přírodovědecká fakulta, 2002. 336 s. ISBN 80-210-2892-0.
2. ABD-ELFATTAH A., FONTES I., KUMAR G., SOLIMAN H., HARTIKAINEN H., OKAMURA B., EL-MATBOULI M., Vertical transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa), the causative agent of salmonid proliferative kidney disease. *Parasitology*, 2014, 141, 482-490.
3. Feist S.W., Peeler E.J., Gardiner R., Smith E., Longshaw M., Proliferative kidney disease and renal myxosporidiosis in juvenile salmonids from rivers in England and Wales. *Journal of Fish Diseases*, 2002, 25, 451-458.
4. Hartikainen H., Fontes I., Okamura B., Parasitism and phenotypic change in colonial hosts. *Parasitology*, 2013, 140, 1403-4012.
5. Okamura B., Wood T.S., Bryozoans as hosts for *Tetracapsula bryosalmonae*. *Journal of Fish Diseases*, 2002, 25, 469-475.
6. Wood T.S., Study methods for freshwater bryozoans. *Denisia*, 2005, 16, 103-110.

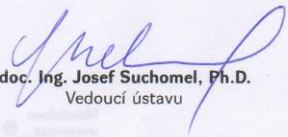
Datum zadání diplomové práce: říjen 2015

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2017

  
**Bc. Veronika Brumovská**  
Autorka práce



  
**prof. Dr. Ing. Jan Mareš**  
Vedoucí práce

  
**doc. Ing. Josef Suchomel, Ph.D.**  
Vedoucí ústavu

  
**doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.**  
Děkan AF MENDELU

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: „*Vodní bezobratlí jako mezipřenositelé parazitů ryb*“, vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne: .....

.....  
podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucím své diplomové práce Mgr. Pavle Řezníčkové, PhD. a prof. Dr. Ing. Janu Marešovi za odborné vedení při zpracování práce. Děkuji za ochotu a vstřícnost při konzultacích, za cenné rady, připomínky, poskytnuté materiály, a především pak za jejich trpělivost během zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lukáši Marešovi za pomoc při přípravě a provádění pokusů. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za umožnění studia, za pomoc a podporu při studiu.

Výstupy a výsledky byly zpracovány na přístrojovém vybavení financovaném z projektu OP VaVpI CZ.1.05/4.1.00/04.0135 Výukové a výzkumné kapacity pro biotechnologické obory a rozšíření infrastruktury. Diplomová práce byla zpracována s podporou projektu NAZV QJ1510077 Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace.

## ABSTRAKT

### Vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb

Hlavním cílem této práce je vytvoření a ověření metodiky pro kultivaci mechovek v laboratorních podmínkách, dále pak zjištění následného optimálního způsobu detekce rybmerek v odebraných vzorcích mechovek, a nakonec vytvoření efektivní a v praxi využitelné metody eliminace mechovek v rybochovných zařízeních.

Nepodařilo se vytvořit a ověřit metodiku kultivace mechovek v laboratorních podmínkách. Optimální způsob detekce rybmerek v odebraných vzorcích mechovek byl ověřen technikou vizuálního sledování daného počtu zoidů v každém vzorku pomocí mikroskopu.

Pro testování eliminace mechovek v zařízeních s intenzivním chovem ryb byly v různých koncentracích využity tři chemikálie (Savo Original, Persteril, formaldehyd), které se běžně v rybářství využívají. Použité přípravky způsobily úhyn celých kolonií druhu *Plumatella emarginata* při koncentracích: Savo Original 0,025 %, Persteril 0,00313 % a formaldehyd 0,00625 %; u druhu *Cristatella mucedo*: Savo Original 0,1 %, Persteril 0,00625 % a formaldehyd 0,0125 %.

Z výsledků působení chemikálií na vybrané dva druhy mechovek vyplývá, že formaldehyd je jediným testovaným přípravkem, který lze využít v zařízení s rybami, protože koncentrace potřebná k usmrcení kolonií mechovek je nižší než letální koncentrace pro lososovité ryby. Při využití formaldehydu o koncentraci 1,38 mg/l vychází náklady na eliminaci mechovek v modelovém systému o objemu 1000 m<sup>3</sup> na 37,5 tis. Kč. Nejlevnější variantou je použití přípravku Savo Original. Tento přípravek lze použít pouze pro zařízení, která jsou dočasně bez ryb.

**Klíčová slova:** Bryozoa, *Plumatella emarginata*, *Cristatella mucedo*, PKD, *Tetracapsuloides bryosalmonae*

## ABSTRACT

### **Aquatic invertebrates as intermediate hosts of fish parasites**

The main aim of the study is the formation and the verification of methodology of Bryozoa cultivation in the laboratory conditions, then the establishing of the optimal method for detection of Myxozoa in the collected samples of Bryozoa, and finally the creation of effective and in practice usable method for eliminating Bryozoa in fish farming facilities.

The creation and verification of the methodology of Bryozoa cultivation in the laboratory conditions was not successful. The optimal detection of Myxozoa in the collected samples of Bryozoa was verified by the technique of visual observation of given number of zooids in each sample using a microscope.

Three chemicals (Savo Original, Persteril, formaldehyde), commonly used in fishery, were used in different concentrations for a testing elimination of Bryozoa in intensive fish breeding systems. Used preparations caused death of entire colonies of the species *Plumatella emarginata* at concentration: Savo Original 0,025 %, Persteril 0,00313 % and formaldehyde 0,00625 %; in case of species *Cristatella mucedo*: Savo Original 0,1 %, Persteril 0,00625 % and formaldehyde 0,0125 %.

Obtained results show that formaldehyde is the only tested product that can be used in fish farming because the concentration needed for killing the colony of Bryozoa is lower than the lethal concentration for salmonid fish. Using formaldehyde in the concentration of 1.38 mg/l for the elimination of Bryozoa in a model system with a volume of 1000 m<sup>3</sup> costs 37.5 thousand CZK. The cheapest variant is to use preparation Savo Original, but this product can be used only in a system which is temporarily without fish.

**Keywords:** Bryozoa, *Plumatella emarginata*, *Cristatella mucedo*, PKD, *Tetracapsuloides bryosalmonae*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>10</b>
3.1	Vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb .....	10
3.2	Bryozoa (mechovky).....	11
3.2.1	Mechovky v České republice .....	15
3.2.2	<i>Plumatella emarginata</i> (mechovka vykrojená).....	16
3.2.3	<i>Cristatella mucedo</i> (mechovka hadovitá) .....	17
3.3	Laboratorní chov mechovek.....	19
3.3.1	Kultivace mechovek.....	19
3.3.2	Klíčení statoblastů.....	20
3.4	Mechovky jako mezihostitelé parazitů.....	22
3.4.1	Způsoby detekce rybomerek .....	22
3.4.2	Myxozoa (rybomorky, výtrusenky).....	23
3.4.2.1	Malacosporea .....	23
3.4.2.2	Druh <i>Tetracapsuloides bryosalmonae</i> a PKD.....	23
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA</b> .....	<b>25</b>
4.1	Kultivace mechovek v laboratorních podmínkách.....	25
4.2	Detekce rybomerek v mechovkách .....	27
4.3	Eliminace mechovek .....	28
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>30</b>
5.1	Kultivace mechovek v laboratorních podmínkách.....	30
5.1.1	Hydrochemické parametry vody .....	30
5.1.2	Výsledky kultivace <i>Plumatella emarginata</i> v laboratorních podmínkách.....	32
5.2	Detekce rybomerek v mechovkách .....	32
5.2.1	Hydrochemické parametry vody .....	32
5.2.2	Výsledky detekce rybomerek v odebraných vzorcích mechovek .....	34



5.3	Eliminace mechovek .....	34
5.3.1	Působení chemikálií na druh <i>Plumatella emarginata</i> – 1. test.....	34
5.3.2	Působení chemikálií na druh <i>Plumatella emarginata</i> – 2. test.....	38
5.3.3	Působení chemikálií na druh <i>Cristatella mucedo</i> .....	41
5.3.4	Srovnání druhů <i>Plumatella emarginata</i> a <i>Cristatella mucedo</i> .....	44
5.3.5	Letální koncentrace pro mechovky a ryby .....	44
5.3.6	Ekonomické zhodnocení .....	45
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>59</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM PŘÍLOH .....</b>	<b>60</b>

# 1 ÚVOD

V České republice je chov ryb spojen především s tradičním chovem kapra obecného v rybnících. Jedná se o specifickou formu akvakultury, která je základem produkce ryb na našem území. V současné době dochází k rozvoji sladkovodní akvakultury především výstavbou specializovaných systémů (např. RAS – recirkulační akvakulturní systém), které jsou zaměřeny hlavně na chov lososovitých ryb (MZe ČR 2013). Tyto systémy jsou zpravidla osídleny dalšími organismy, jejichž výskyt je dán především lokálními podmínkami. Hojný je výskyt vodních bezobratlých, jejichž vliv na zařízení je různý. Některé druhy nemají na RAS žádný vliv, ale nacházejí se zde i druhy, jejichž přítomnost není žádoucí. Tyto druhy mohou negativně ovlivňovat funkci biofiltrů, mohou zarůstat rozvodné části zařízení nebo jsou mezihostitelskými druhy rybích parazitů, kteří způsobují u ryb řadu vážných onemocnění.

Jedním z těchto onemocnění je proliferativní onemocnění ledvin (PKD) ohrožující lososovité ryby v intenzivních chovech i ve volných vodách v Evropě a severní Americe. Úmrtnost způsobená nákazou PKD dosahuje ve volných vodách přibližně 20 %, ale ve spojení se sekundárními patogeny nebo v důsledku nepříznivých podmínek na rybích farmách a líhních může dosáhnout až 95–100 % (Hedrick *et al.* 1993). První záznam PKD byl v Německu v roce 1924 (Plehn *et al.* 1924). Na území České republiky bylo onemocnění poprvé prokázáno v roce 1986 (Svobodová 2007). Onemocnění se projevuje nejčastěji u jednoletých ryb, když teplota stoupne nad 15 °C. Původce PKD byl na základě spor přítomných v ledvinových tubulech ryb identifikován jako druh *Tetracapsuloides bryosalmonae*, zástupce kmene Myxozoa (Kent a Hedrick 1985).

Parazitický druh *Tetracapsuloides bryosalmonae* má dvojhositelský životní cyklus. Mezihostitelskými druhy jsou mechovky (Bryozoa) třídy Phylactolaemata (Lom a Dyková 2006) a konečnými hostiteli jsou lososovité ryby (Hrabcová 2015). Mechovky jsou přisedle žijící koloniální organismy, které obývají všechny typy vodních ekosystémů. Třída Phylactolaemata obsahuje pouze sladkovodní druhy, z nichž se na území České republiky nachází celkem 10 druhů (Korábek 2009). Za potencionální mezihostitele parazita *Tetracapsuloides bryosalmonae* jsou označovány například druhy *Plumatella repens*, *Cristatella mucedo*, *Plumatella emarginata*, *Plumatella fungosa* nebo *Fredericella sultana* (Tops a Okamura 2005, Hrabcová 2015).

## 2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je zpracování literární rešerše na téma vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb. Pozornost je věnována především mechovkám (Bryozoa), které jsou potencionálními přenašeči závažných rybích parazitů rybomerek. Dále pak vytvoření a ověření metodiky pro kultivaci mechovek v laboratorních podmínkách. Dalším cílem práce je sledování a popsání životních cyklů vybraných druhů mechovek v přirozených podmínkách na dvou lokalitách, kde byla v minulosti prokázána nákaza parazitem *Tetracapsuloides bryosalmonae* a zjištění následného optimálního způsobu detekce rybomerek v odebraných vzorcích mechovek z těchto lokalit. A nakonec vytvoření efektivní a v praxi využitelné metody eliminace mechovek v rybochovných zařízeních.

### 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

#### 3.1 Vodní bezobratlí jako mezihostitelé parazitů ryb

Ryby všech druhů i věkových kategorií mohou trpět různými onemocněními. Některé z nich mohou být parazitárního původu. Rybí paraziti mohou mít jednoho či více hostitelů. Častými mezihostiteli jsou vodní bezobratlí živočichové.

Zástupci čeledi Tubificidae (nitěnkovití) jsou známy jako mezihostitelské druhy pro některé parazitické organismy kmene Myxozoa (výstrusenky) a třídy Cestoda (tasemnice). V nitěnkách rodu *Tubifex* probíhá aktinosporeová část vývojového cyklu parazita lososovitých ryb *Myxobolus cerebralis*. V dalších zástupcích nitěnkovitých probíhá část životního cyklu tasemnic rodů *Khawia*, *Caryophyllaeus* a *Atractolytocestus* (Svobodová 2007).

Mezihostitelské organismy najdeme i ve třídě Gastropoda (vodní plži). Vodní plži rodu *Lymnaea* (plovatka) jsou mezihostiteli třídy Trematoda (motolice). V našich podmínkách jsou obzvláště nebezpečné rody *Sanguinicola* (krevničky) a *Diplostomum*. Méně častý je potom výskyt rodu *Posthodiplostomum* (Svobodová 2007).

Další organismy, které často slouží parazitům jako mezihostitelé, jsou korýši, a to například podtřída Copepoda (klanonožci) nebo třída Ostracoda (lasturnatky). V podtřídě Copepoda se jedná především o řád Cyclopoida (buchanky), v nichž probíhá část vývoje tasemnic rodů *Bothriocephalus*, *Proteocephalus*, *Trianocephorus* a *Ligula*. Dále pak řád Cyclopoida využívají hlístice rodů *Raphidascarius*, *Philometroides* a *Anguillicola*. Třída Ostracoda je například mezihostitelem vrtejše *Neoechinorhynchus rutili*, který parazituje kromě celé řady rybích druhů i u rybníčního kapra (Svobodová 2007).

Tato práce je zaměřena na třídu Bryozoa (mechovky), které jsou mezihostitelským článkem parazita *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Tento parazit způsobuje u lososovitých ryb proliferativní onemocnění ledvin (PKD) (Canning *et al.* 1999).

## 3.2 Bryozoa (mechovky)

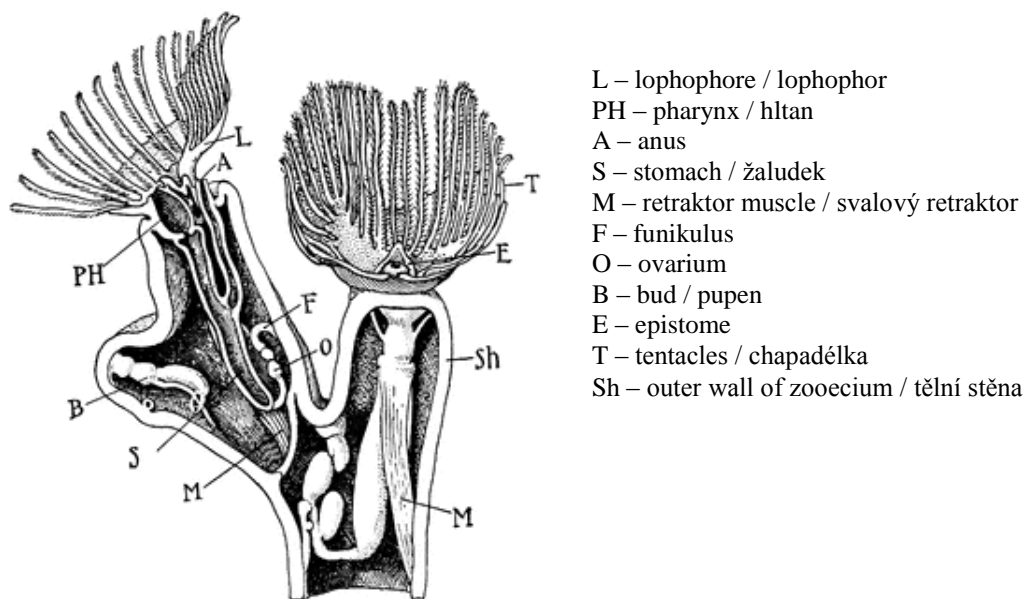
Původní název kmene byl Polyzoa. Ten v roce 1831 nahradil německý přírodovědec, zoolog, geolog a mikrobiolog Christian Gottfried Ehrenberg (1795–1876) termínem Bryozoa (Ernst 2007). Později byla objevena skupina živočichů, jejíž filtrační mechanismus vypadal podobně a byla zahrnuta do kmene Bryozoa. V roce 1869 bylo zjištěno, že tyto skupiny jsou vnitřně velmi odlišné a nově objevená skupina dostala název Entoprocta (mechovnatci). Původní skupina Bryozoa byla ve stejném roce německým profesorem zoologie Hinrichem Nitschem (1845–1902) nazvána Ectoprocta (Fuchs *et al.* 2009). Nicméně označení Bryozoa nadále zůstává v literatuře nejčastěji používaným názvem pro tuto skupinu živočichů.

Mechovky jsou mořští i sladkovodní přisedle žijící bezobratlí živočichové, kteří obývají všechny typy vodních ekosystémů. Převážná většina mořských druhů žije v tropických vodách, ale někteří se nacházejí i v oceánských příkopech nebo v polárních vodách. Další druhy žijí výhradně ve sladkovodním prostředí, zatímco jiné druhy dávají přednost brakickým vodám, ale jsou schopny přežít i ve vodách slaných (Massard a Geimer 2008a). Kmen Bryozoa se dělí do tří tříd: Phylactolaemata, Stenolaemata a Gymnolaemata (Ruppert *et al.* 2004). Třída Phylactolaemata obsahuje asi 80 sladkovodních a brakických druhů (Massard a Geimer 2008a), třída Stenolaemata obsahuje asi 700 mořských druhů a třída Gymnolaemata obsahuje asi 5000 převážně mořských druhů (Gordon 2003), pouze několik druhů žije v brakických vodách.

Asexuálním pučením vytvářejí kolonie různých tvarů a velikostí. Některé druhy mohou vypadat jako housenkovité chomáčky (např. *Cristatella mucedo*), jiné jako porosty mechu (např. *Plumatella emarginata*) nebo jako rosolovité útvary vážící až několik kilogramů (např. *Pectinatella magnifica*). V našich podmínkách se většina druhů nachází v hloubkách do 1 m. Během teplých měsíců se objevují téměř ve všech jezerech a potocích, kde je dostatek připojovacího materiálu. Kolonie preferují stinná místa (Lukešová 2011) a přichytávají se na různé předměty ponořené ve vodě. Běžně je nacházíme na vodních rostlinách, kamenech, dřevě, ale často se přichycují i na materiály jako jsou schránky vodních mlžů, sklo, plast nebo igelit (Wood 2005).

Jednotlivci, z nichž jsou tvořeny kolonie, se nazývají zooidi a jsou většinou menší než 1 mm (Sedlák 2002). Všechny kolonie obsahují autozooidy, kteří jsou autonomní a plní všechny základní biologické funkce, jako například příjem potravy, trávení, dýchání nebo rozmnožování. Výhodou tohoto systému je, že jakýkoliv zooid může být poškozen nebo zničen, aniž by došlo k vážnému narušení zbytku kolonie. (Thorp a Rogers 2014). Kolonie některých tříd mohou mít další specializované zooidy – heterozooidy, kteří slouží k přichycení k podkladu (kenozoidi), k očištění od drobných částic (vibracularia) nebo na obranu kolonie (avicularia) (Smrž 2013). Zástupci mořského řádu Cheilostomata mají největší počet druhů a možná proto se u nich nachází i nejširší škála specializovaných zooidů. Několik druhů se může velmi pomalu plíživě pohybovat vpřed pomocí ostnatých obranných zooidů, kteří slouží jako odrážecí nohy (McKinney a Jackson 1991).

Těla zooidů (Obrázek 1) můžeme rozdělit na tři části: prosoma, mesosoma a metasoma. Prosoma obsahuje nepárovou coelomovou dutinu protoceol a tvoří destičku (epistom), která překrývá ústní otvor. Mesosoma vytváří nosič chapadélek (lophophor), která jsou pokryta řasinkovým epitelem. Metasoma je největší částí těla zooidů. Vytváří schránku váčkovitého nebo trubičkovitého tvaru a vytváří s ní cystid, do něhož se může zooid zatáhnout (Sedlák 2002). Cystid tvoří tělní stěna, která je bez ohledu na typ exoskeletu utvářena pomocí epidermis. Exoskelet může být organického původu (chitin, polysacharidy, protein) nebo mineralizována uhličitanem vápenatým (Ruppert *et al.* 2004).



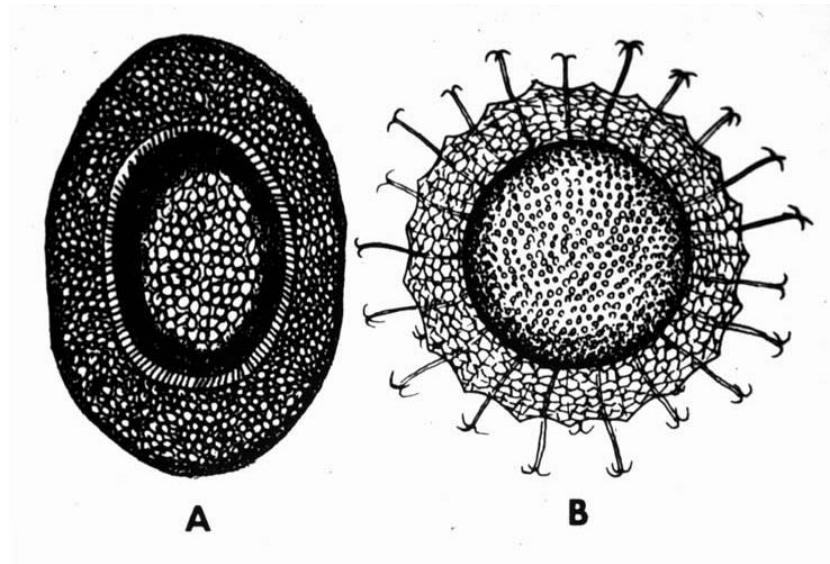
Obrázek 1: Plumatella sp. – stavba těla (<http://etc.usf.edu/>)

Trávicí soustava mechovek má tvar „U“, skládá se z lophophoru, ústního otvoru, trávicí trubice a řitního otvoru. Lophophor může být prstencovitého nebo podkovovitého tvaru a je tvořen dutými obrvenými chapadly. Ty svým pohybem vytvářejí proud, zachytávají částice potravy a přivádějí je do ústního otvoru, který se nachází uprostřed lophophoru. Nežádoucí částice mohou být pomocí chapadel odstraněny nebo se uzavřením úst zabrání jejich pozření. U některých druhů mechovek tvoří první část žaludku svalnatý žaludek lemovaný chitinovými zuby, které drtí tvrdé části potravy (např. rozsivky). Peristaltickými pohyby je pak potrava posouvána dál přes žaludek do střeva a nestrávené zbytky se vylučují řitním otvorem, který se nachází vždy mimo lophophor. Mechovky jsou filtrátoři, kteří filtrují malé částice potravy (především fytoplanktonu) z vody (Ruppert *et al.* 2004). Sladkovodní druh *Plumatella emarginata* se živí rozsivkami, zelenými řasami, sinicemi, bakteriemi, obrněnkami, vířníky, prvoky, malými hlísticemi a mikroskopickými korýši (Callaghan a Karlson 2002).

Dýchací ani cévní soustava není u mechovek vytvořena. Zooidi absorbují kyslík a vylučují oxid uhličitý prostřednictvím pokožky, v největší míře na chapadlech. Nervová soustava je velmi jednoduchá. Je tvořena nadjícnovou uzlinou a několika nervy (Sedlák 2002), které vystupují do chapadel a zbytku těla. Mechovky nemají žádné speciální smyslové orgány, ale řasinky na chapadlech působí jako senzory. Při jejich podráždění dojde k okamžitému zatažení lophophoru (Ruppert *et al.* 2004).

Rozmnožování může probíhat pohlavně i nepohlavně. Mechovky třídy Phylactolaemata se množí nepohlavním způsobem, který umožňuje koloniím zůstat naživu v proměnlivých a nejistých podmínkách sladkovodního prostředí (Doherty 2001). V průběhu léta a podzimu produkují diskovité útvary (statoblasty), které slouží k přežití (Ruppert *et al.* 2004). Statoblasty se tvoří na funiculu, který vede z rodičovského střeva a vyživuje je. Při růstu se u statoblastů vytváří ochranný plášť z chitinu. Rozlišujeme několik typů statoblastů: „sesoblasty“, které jsou lepivé a v období zralosti zůstávají přichycené na mateřské kolonii nebo odpadávají na dno; „floatoblasty“ (Obrázek 2), jejichž obal obsahuje vzduchové komůrky, které jim umožňují plavat; statoblasty, které zůstávají v tělní dutině rodičovského zooidu a slouží k obnovení odumřelé kolonie. Statoblasty mohou procházet obdobím dormance, kdy po určitou dobu zůstávají v nečinnosti a takto přečkávají nepříznivé podmínky, jako je vymrznutí nebo vyschnutí. V tomto období mohou být přeneseny na dlouhé vzdálenosti pomocí zvířat, plovoucích

vegetace, vodních a větrných proudů (Doherty 2001) nebo v útrokách větších zvířat (Wood a Okamura 1998). Když se podmínky zlepší, plášť se oddělí a buňky uvnitř se vyvinou v zooida, který začne tvořit novou kolonii. *Plumatella emarginata* vytváří jak „sesoblasty“, které umožňují osidlovat stávající území v případě, že je mateřská kolonie zdecimována nepříznivými podmínkami, tak i „floatoblasty“, které se rozšiřují do nových lokalit. U druh *Plumatella repens* jsou mladými koloniemi produkovány především „sesoblasty“, zatímco starší a vyspělejší kolonie produkují hlavně „floatoblasty“ (Callaghan a Karlson 2002). Ruppert *et al.* ve své studii z roku 2004 odhadují, že kolonie druhu *Plumatella repens* o velikosti 1 m<sup>2</sup> vyprodukuje 800 000 statoblastů.



Obrázek 2: A – floatoblast druhu *Plumatella emarginata*, B – floatoblast s háčky druhu *Cristatella mucedo* (<http://educationally.narod.ru>)



### 3.2.1 Mechovky v České republice

Český název je založen na řeckém označení Bryozoa – bryon (mech) a zoon (živočich). V angličtině se mechovky nazývají moss animals, což se dá přeložit jako „zvířata mechu“ (Trumble a Brown 2002). Převládající většina asi 5 000 žijících druhů mechovek žije v mořské nebo brakické vodě. Ve sladkovodním prostředí můžeme najít asi jen 50 druhů (Šetlíková *et al.* 2005).

Na území České republiky se nachází 10 druhů mechovek, které patří do tříd Gymnolaemata a Phyllactolaemata (Korábek 2009). Třída Gymnolaemata obsahuje hlavně mořské druhy mechovek. Mají kruhovitý lophophor a není u nich vytvořený epistom. Kolonie jsou často inkrustovány uhličitánem vápenatým. Ve velké míře se u nich vyskytují specializované zooidy sloužící například k pohybu nebo obraně kolonie (McKinney a Jackson 1991). Zástupci této třídy tvoří statoblasty. Třidu Gymnolaemata u nás reprezentuje jen jediný druh, *Paludicella articulata* (Korábek 2009).

Třída Phyllactolaemata obsahuje pouze sladkovodní druhy. Lophophor má podkovovitý tvar a epistom je velmi dobře rozvinutý. Na rozdíl od třídy Gymnolaemata se u nich nevyskytují žádné specializované zooidy. Rozmnožují se pomocí statoblastů (Sedlák 2002). V České republice se vyskytuje těchto devět druhů: *Plumatella emarginata*, *Plumatella fruticosa*, *Plumatella fungosa*, *Plumatella punctata* a *Plumatella repens*. Ty se od sebe vzájemně odlišují velikostí kolonií a zooidů, morfologií statoblastů, rozdílným tvarem lophophoru a počtu chapadel na něm. Dále se zde vyskytují druhy *Fredericella sultana*, *Cristatella mucedo*, *Lophopus crystallinus* a *Pectinatella magnifica* (Hrabcová 2015). Druh *Pectinatella magnifica* má svůj původ v Americe a do českých řek byla uměle zavlečena v průběhu 20. století (Balounová *et al.* 2011). Společně s druhem *Fredericella sultana* mohou přežít zimu bez produkce statoblastů. Mechovka *Pectinatella magnifica* udržuje kolonie v průběhu celého roku.

V další části bude věnována pozornost pouze vybraným druhům mechovek, a to druhům *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*, které byly potvrzeny jako hostitelské druhy *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Anderson *et al.* 1999a).

## Taxonomické zařazení (Sedlák 2002)

Říše: Animalia – Živočichové

Oddělení: Lophotrochozoa

Kmen: Bryozoa (Ectoprocta) – Mechovci

Třída: Phylactolaemata – Mechovky

Řád: Plumatellida

Čeleď: Plumatellidae – Mechovkovití

Rod: *Plumatella* – Mechovka

Druh: *Plumatella emarginata* (Allman 1844) – Mechovka vykrojená

Čeleď: Cristatellidae

Rod: *Cristatella* – Mechovka

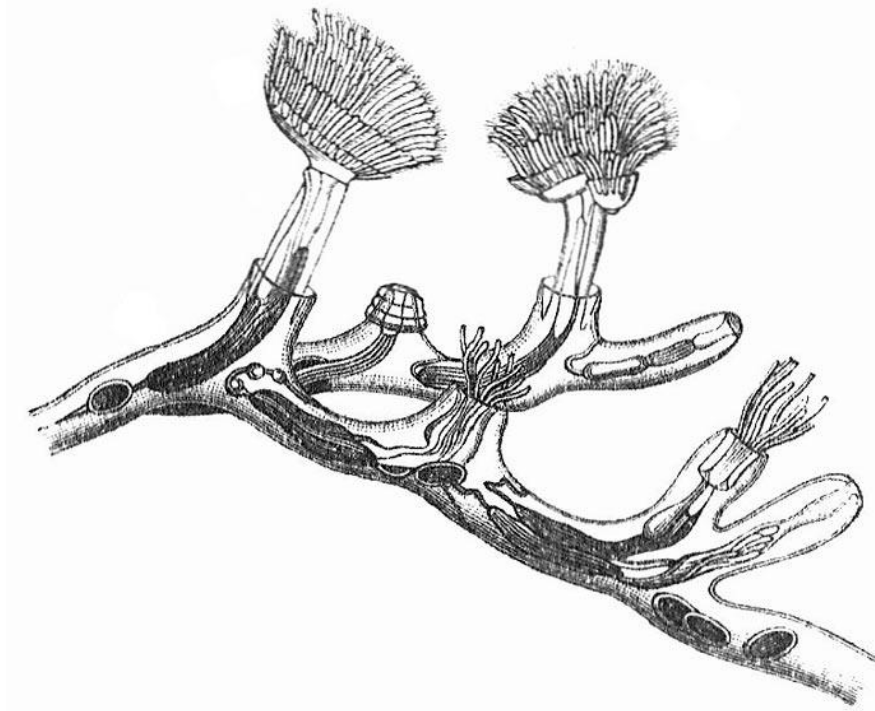
Druh: *Cristatella mucedo* (Cuvier 1798) – Mechovka hadovitá

### 3.2.2 *Plumatella emarginata* (mechovka vykrojená)

Druh *Plumatella emarginata* popsal v roce 1844 australský zoolog Francis George Allman Barnard (1857–1932) (Bisby *et al.* 2011). Jedná se o snadno identifikovatelný druh. Hlavními kritérii pro jeho identifikaci jsou velikost a tvar statoblastů. I přes morfologické rozdíly byla dříve *Plumatella emarginata* považována za jednu z variet druhu *Plumatella repens*. Pomocí elektroforetické analýzy se později potvrdilo, že se jedná o dva rozdílné druhy s vysokou úrovní genetické diferenciace (Thorpe a Mundy 1980).

Jedná se o přisedlou sladkovodní mechovku žijící na povrchu bentických substrátů. Je snadno přehlédnutelná, protože na první pohled vypadá jako nahnědlý porost. Mladé kolonie mají barvu světlejší, starší kolonie jsou tmavší. Živí se jako filtrátor (Wood 1991). Vyskytuje se v čisté vodě, kde se rozrůstá při teplotě nad 16 °C. Kolonie se nejlépe rozvíjejí na podzim. Jedná se o výsledek evolučního vývoje způsobený zvýšeným predačním tlakem v letních měsících (Callaghan a Karlson 2002). Když teplota klesne pod 10–12 °C zooidi hynou. Velikost zooidů se pohybuje do 2 mm. Lophophor je podkovovitého tvaru a nese 37–40 chapadel. Cystidy jsou většinou s kýlem (Shrivastava a Rao 1985).

Tento druh má schopnost se rozmnožovat sexuálně larvami, ale činí tak relativně zřídka (Wood 1973). Rozmnožování většinou probíhá asexuálním vnitřním pučením, při němž vznikají chitinozní kapsle – statoblasty. *Plumatella emarginata* vytváří dva typy statoblastů. Plovoucí floatoblasty, které jsou dvakrát delší než širší. Často jsou na koncích zploštělé, takže obvod je téměř čtvercový. Floatoblasty obsahují prstenec naplněný vzdušnými buňkami, které usnadňují rozptýlení při rozpadu mateřské kolonie. Přisedlé sessoblasty, které jsou připojeny k podkladu a mají rudimentární plovoucí prstenec (Callaghan a Karlson 2002).



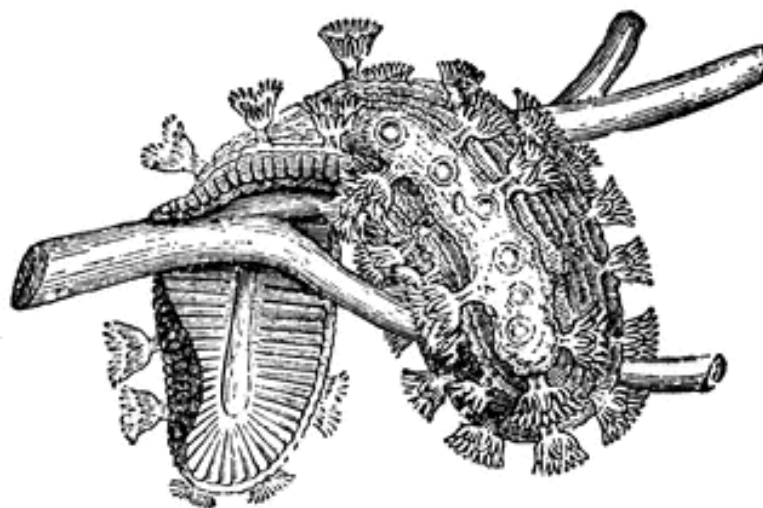
Obrázek 3: *Plumatella* sp. (<http://ecosystema.ru/>)

### 3.2.3 *Cristatella mucedo* (mechovka hadovitá)

Druh *Cristatella mucedo* popsal v roce 1798 francouzský přírodovědec a zoolog Georges Léopold Chrétien Frédéric Dagebert Cuvier (1769–1832) (Bock 2015). *Cristatella mucedo* tvoří jasně ohraničené želatinové kolonie, které na první pohled připomínají housenku. Jednotliví zooidé vyčnívají z těla v rovnoběžných nebo koncentrických řadách. Nejstarší zooidy jsou uvnitř a mladší zooidy vyrůstají ve 2 až 3 řadách na vnější straně kolonie (Thorpe a Rogers 2014).

Nejčastěji se vyskytuje v čistých stojatých nebo mírně tekoucích vodách do hloubky 2 metrů. Pučení kolonie začíná při teplotě nad 15–16 °C (Økland a Økland 2000) a umírají, pokud teplota klesne pod 9–10 °C. Kolonie tohoto druhu má životnost asi 6 týdnů. Kolonie, které se mohou pomalu pohybovat, se nacházejí nejčastěji na ponořených větvích nebo oddencích rostlin (Reynolds 1976). Velké kolonie se přesouvají málo, ale menší kolonie (kolem 1 cm) jsou schopny urazit i přes 10 cm za den. Kolonie mohou být až 40 cm dlouhé a 0,6–2 cm široké. Velikost jednotlivých zoidů je asi 2 mm. Lophophor je podkovovitého tvaru s 80–100 chapadly (Thorp a Rogers 2014). Stejně jako všechny ostatní mechovky je i tento druh mikrofág. Svými chapadly filtruje vodu a zachycené částice posouvá k ústnímu otvoru.

Mechovka *Cristatella mucedo* se rozmnožuje zpravidla nepohlavně. Tento druh tvoří hlavně floatoblasty, sessoblasty se u něj vyskytují jen velmi zřídka. Floatoblasty jsou nejlepším taxonomickým znakem. Jsou viditelné pouhým okem, mají tvar létajícího talíře a jejich velikost je cca 1 mm v průměru (Økland a Økland 2000). Uvnitř statoblastu se nachází zárodečný materiál, který obklopuje vzdušný vak sloužící k plavání. Na statoblastech se dále nachází dvě chlopně – hřbetní a břišní, které nesou různý počet přichytných háčků. Na hřbetní chlopni je 12–20 háčků, na straně břišní je jich 20–40 (Oda a Mukai 1985). Přichytné háčky mohou sloužit k uchycení nebo ke zvýšení schopnosti plavat (využitím povrchového napětí vody).



Obrázek 4: *Cristatella mucedo* (<http://etc.usf.edu/>)

### 3.3 Laboratorní chov mechovek

Mechovky mohou v intenzivních chovech ryb způsobovat vážné problémy jak zarůstáním rozvodného potrubí, tak i tím, že jsou mezipřenositeli rybích parazitů. Laboratorní chov mechovek slouží k definování optimálních podmínek pro jejich výskyt a rozvoj. Změna těchto podmínek by mohla vést k jejich částečné nebo úplné eliminaci.

#### 3.3.1 Kultivace mechovek

Kultivace mechovek v laboratorních podmínkách je velmi obtížná. Mechovky rodu *Cristatella* a *Pectinatella* se podařilo udržet živé pouze několik dní (Wood 2005). Wayss (1968) udržel naživu kolonii *Plumatella repens* po dobu 3 let. Použil k tomu několik různých jednobuněčných zelených řas ve směsi Knopova živného roztoku a půdním výluhu smíchaném v poměru 1:1. Avšak jeden z neefektivnějších a bezproblémových kultivačních systémů, který se využívá už roky, je podmíněn přítomností ryb. Ryby jsou umístěny ve velkých akváriích ve vodě, která se nikdy nefiltruje ani nemění. Akvária jsou dobře osvětlená a ryby jsou dobře krmené. Vodou z těchto velkých akvárií jsou následně proplachovány menší tmavé nádrže, v nichž rostou mechovky (Wood 1996).

Morris *et al.* (2002) popsali další možnost kultivace mechovek v plastových akváriích, do nichž jsou ve vertikální poloze umístěny Petriho misky s již přichycenými koloniemi *Plumatella repens*. Tato akvária se naplní umělou sladkou vodou střední tvrdosti (0,35 mM  $\text{CaSO}_4 (2\text{H}_2\text{O})$ , 0,5 mM KCl, 0,5 mM  $\text{MgSO}_4 (7\text{H}_2\text{O})$ , 0,1 mM  $\text{NaHCO}_3$ ), jsou intenzivně provzdušňována a pomocí ohřívačů vody se v nich udržuje konstantní teplota 21°C. Voda v akváriích se mění jednou týdně. Kolonie mechovek jsou denně krmeny směsí vzrostlých kultur suspenzí přímo do nádrže. Směs je složena z *Cryptomonas ovata* Pringsheim (300 ml), *Synechococcus leopoliensis* Komárek (150 ml) a *Pediastrum boryanum* Myen (50 ml). V prvním týdnu byly do vody také přidány kultury *Chilomonas paramecium* Ehrenberg a *Colpidium striatum* Stokes (10 ml každé), aby se akvária naočkovala prvoky.

Mechovky je důležité chránit před usazováním částic na jejich povrchu. Nejjednodušší způsob, jak toho dosáhnout, je růst kolonií na spodní straně umělého substrátu. Například jednotlivé plastové Petriho misky obsahující mechovky mohou být vloženy do skleněných trubic přilepených k vnitřní stěně kultivačního akvária nebo

skleněné Petriho misky obsahující kolonie mohou být umístěny v akváriích na stojanech dnem vzhůru. Třetí možností, vhodnou pro hromadnou kultivaci, je růst kolonií na spodních stranách skleněných desek, které se nakloní a umístí paralelně do řady, jako včelí plástve v úlu (Wood 2005).

Přenos kolonií rodu *Lophopodella*, *Lophopus* a *Cristatella* je poměrně snadný. Jsou jednoduše odebrány z původního substrátu a umístěny přímo na nový substrát, na který se během 3–12 hodin přichytí. Rozvětvuující se kolonie se na nový substrát přichytí pouze aktivně rostoucími konci větví. Volné větve mechovek rodu *Fredericella* a některých druhů rodu *Plumatella* mohou být ponechány v klidu po dobu 1–2 dnů tak, že konce větví jsou v kontaktu s požadovaným substrátem nebo je možno větve jemně zatížit skleněnými tyčinkami, dokud nebudou na novém substrátu samy držet. Obecně platí, že větve, které jsou pevně připojeny k substrátu celou svou délkou, jsou jen málokdy úspěšně přeneseny na jiné místo. Pokud je ovšem možno umístit část starého substrátu s kolonií na skleněnou desku s klíny nebo gumovými pásky může kolonie přerůst i na sklo. Pak lze starý substrát odstranit (Wood 2005).

Mechovky mohou být také kultivovány in situ na umělém substrátu. Wöss (1996, 2000, 2002) přenesl kolonie mechovek na desky ze dřeva a plexiskla, které byly zavěšeny vertikálně pod plovoucí vor. Wood (1973) s úspěchem využíval sklo a rýhovaný polyetylenový substrát. Na vinylu nebo gumové fólii se nacházely jen velmi malé kolonie.

### **3.3.2 Klíčení statoblastů**

Statoblasty mechovek procházejí obdobím dormance, které obvykle trvá 3–5 týdnů nebo více. V zásadě je možné klíčení mnoha statoblastů v daném čase tak, že je nejprve skladujeme v nepříznivých podmínkách (sucho, temno, chlad), dokud není překročena doba vegetačního klidu. Po návratu do příznivých podmínek začínají statoblasty současně klíčit do 2–7 dnů (Wood 2005).

Statoblasty z oblastí mírného pásma ve svých přírodních stanovištích snadno přežívají sušení a rozmrazování. Rogick (1940) nabízí přehled údajů o životaschopnosti suchých statoblastů. Bylo zjištěno, že statoblasty klíčily rychleji a spolehlivěji po uskladnění ve vodě při teplotě 4°C. Statoblasty tropických druhů mechovek jen zřídka tolerovaly chlazení a je nejlepší je skladovat při pokojové teplotě v 1–2 % solném roztoku.

Následující body jsou pro klíčení statoblastů důležité:

1. Deionizovaná nebo dešťová voda zvyšuje klíčivost u všech druhů.
2. Statoblasty rodu *Plumatella* klíčí rychleji nahromaděné spolu než jednotlivě izolované.
3. Lophopodidní statoblasty mohou být skladovány při pokojové teplotě, pokud jsou uloženy v úplné tmě. Vystavením silnému světlu se pak spustí klíčení (Oda 1959).
4. Statoblasty rodu *Cristatella* mají delší období dormance než jiné druhy.
5. Statoblasty rodu *Fredericella* mohou po skladování v nízkých teplotách a následném příliš rychlém ohřevu prasknout.

Statoblasty je také možno klíčit v Petriho misce, která je na podpěrách umístěna v nádobě s vodou dnem vzhůru tak, že kraj misky je přibližně 1 cm nad dnem nádoby. Z misky musí být odstraněn všechen vzduch. Volné statoblasty – floatoblasty jsou sbírány pipetou a stříkány pod Petriho misku. Je potřeba dávat pozor, aby nedošlo k vložení statoblastu mimo misku nebo se pod ni nedostala vzduchová bublina. Jakmile jsou floatoblasty umístěny, je možné Petriho misku uzavřít víčkem a opatrně vyjmout z vody. Tímto způsobem mohou být klíčící statoblasty zkoumány pod mikroskopem, aniž by došlo k jejich narušení. Petriho misky by kvůli odpařování neměly být mimo nádoby s vodou déle než pár hodin.

### 3.4 Mechovky jako mezihostitelé parazitů

Molekulární biologie prokázala, že část kmene Bryozoa (mechovky) může být nosičem nebo mezihostitelem různých druhů parazitů (Anderson *et al.* 1999b). Myxozoa (výtrusenky) jsou někdy viditelné jako drobné částice nebo váčky v coelomatické tekutině mechovek (Canning *et al.* 1997). Jeden druh výtrusenek, *Tetracapsula bryozoides*, byl podrobně popsán z malých vaků nalezených v kolonii *Cristatella mucedo* (Canning *et al.* 1996, Okamura 1996). Část jeho životního cyklu zahrnuje červovitého parazita, později popisovaného jako *Buddenbrockia plumatellae* (Marcus 1941, Schröder 1912). Ekologie, vývoj a patogenita druhu *Tetracapsula bryozoides* byla definována z několika druhů mechovek v Severní Americe a Evropě (Canning *et al.* 2002).

Příbuzný druh parazita z kmene výtrusenky, *Tetracapsuloides bryosalmonae*, infikuje lososovité ryby, u nichž vyvolává velmi závažné proliferativní onemocnění ledvin (PKD) (Canning *et al.* 1999). PKD je jedním z nejzávažnějších onemocnění v chovech lososovitých ryb, které může způsobit vysoké ztráty u infikovaných populací. Důkazy nasvědčují tomu, že mechovky jsou předchozí hostitelé, a i když je parazit přenášen mezi rybami a mechovkami, jsou to právě ryby, které jsou nejvíce postiženy (Morris a Adams 2006).

#### 3.4.1 Způsoby detekce rybomerek

Morris *et al.* v roce 2002 popsali pokus, v němž z ledvin ryb nakažených onemocněním PKD získali při pitvě spory *Tetracapsuloides bryosalmonae*, kterými infikovali kolonie *Plumatella repens*. Tyto kolonie byly pak *in vivo* prohlíženy za pomoci inverzního mikroskopu denně po dobu prvního týdne od data expozice a pak jednou týdně až do doby, kdy byl v zooidech zpozorován první výskyt rybomerek. Pak byly opět sledovány denně po dobu čtyř týdnů. Mimo to byly také pod inverzním mikroskopem při 400x zvětšení sledovány výkaly infikovaných kolonií, kde byla možnost nálezu uvolněných spor *Tetracapsuloides bryosalmonae*.

Dalším možným způsobem detekce je PCR – polymerázová řetězová reakce, která byla použita pro detekci DNA malacosporeí v ledvinách, krvi, mozku, močovém měchýři, plynovém měchýři, žluči, očích a srdci sladkovodních ryb a v některých částech kolonií sladkovodních a mořských mechovek (Hrabcová 2015).



### 3.4.2 Myxozoa (rybomorky, výtrusenky)

Podkmenný Myxozoa (rybomorky nebo také výtrusenky) je skupina mikroskopických parazitů, patřících do kmene Cnidaria (žahavci). Dělí se na dvě třídy: Myxosporea (Bütschli 1881) a Malacosporea (Canning *et al.* 2000, Kent *et al.* 2001). Dříve byla ještě zvláště oddělována třída Actinosporea, ale ukázalo se, že se jedná pouze o vývojová stádia třídy Myxosporea. Většina zástupců podkmene Myxozoa střídavě parazituje na rybách a bezobratlých hostitelích, jako jsou kroužkovci (máloštětinatci i mnohoštětinatci) a mechovky (Lom a Dyková 2006). Myxozoa byla také vzácně zjištěna u ploštěnců (Freeman a Shinn 2011), plazů (Eiras 2005), obojživelníků (Hartigan *et al.* 2012), ptáků (Bartholomew *et al.* 2008) a savců (Friedrich *et al.* 2000, Prunescu *et al.* 2007). Pochopení biologie rybomerek má velký hospodářský význam, protože infekce vyvolané některými zástupci mohou vést k významným onemocněním a často i vysoké úmrtnosti chovaných ryb.

#### 3.4.2.1 Malacosporea

Rybomorky třídy Malacosporea zahrnují mimo jiné dva zástupce, kteří mohou způsobovat různá onemocnění ryb. Prvním z nich je *Buddenbrockia plumatellae* (dříve *Tetracapsula bryozoides*) a druhým je *Tetracapsuloides bryosalmonae* (dříve *Tetracapsula bryosalmonae*; Canning *et al.* 2002). Tito zástupci třídy Malacosporea parazitují na sladkovodních mechovkách třídy Phylactolaemata, v nichž tvoří červovité nebo vakovité útvary, které obsahují infikované spory (Monteiro *et al.* 2002, Okamura *et al.* 2002). *Buddenbrockia plumatellae* a *Tetracapsuloides bryosalmonae* se od sebe odlišují morfologicky (tvar a velikost váčků) a na základě své DNA sekvence (Canning *et al.* 2007). *Buddenbrockia plumatellae* prochází v hostitelské mechovce červovitou fází, *Tetracapsuloides bryosalmonae* touto fází při svém vývinu neprochází.

#### 3.4.2.2 Druh *Tetracapsuloides bryosalmonae* a PKD

Nejvýznamnější druh z třídy Malacosporea je *Tetracapsuloides bryosalmonae*, původce proliferativního onemocnění ledvin (PKD) u volně žijících i farmových chovech lososovitých ryb (Canning *et al.* 1999, Feist *et al.* 2001). Onemocnění se nejčastěji vyskytuje u druhu *Oncorhynchus mykiss* (pstruh duhový), zejména u ročka (Palíková *et al.* 2016). Od prvního záznamu PKD v Německu (Plehn *et al.* 1924) byla dále zjištěna ve většině Evropských zemí, v Kanadě a několika státech na západě USA (Hedrick *et al.* 1993). Na území České republiky bylo onemocnění poprvé prokázáno v roce 1986

(Svobodová 2007). Původce PKD lososovitých ryb byl na základě spor přítomných v ledvinových tubulech ryb identifikován jako zástupce kmene Myxozoa (Kent a Hedrick 1985). Zpočátku byl označován jako tajemný PKX organismus (Seagrave *et al.* 1980), později byl pojmenován *Tetracapsula bryosalmonae* (Anderson *et al.* 1999b, Canning *et al.* 1999) a nakonec byl přejmenován na *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Canning *et al.* 2002).

Průběh onemocnění závisí na ročním období, s nímž souvisí výskyt mezihostitelských mechovek. Obvykle se první infekce objeví, když teplota vody stoupne nad 15 °C. To znamená, že infekce většinou vrcholí v létě a na podzim (Hedrick *et al.* 1993). Bylo ale zjištěno, že i při nižších teplotách kolem 12 °C může *Tetracapsuloides bryosalmonae* vyvolat klinickou PKD (Morris *et al.* 2005, Schmidt-Posthaus *et al.* 2012). Klinické příznaky PKD zahrnují otoky ledvin a sleziny, vyboulení očí, zčernání ploutví a ocasu a následné hromadění tekutin v břišní dutině (ascites; Okamura a Canning 2003). Úmrtnost způsobená nákazou PKD dosahuje ve volných vodách přibližně 20 %, ale ve spojení se sekundárními patogeny nebo v důsledku nepříznivých podmínek na rybích farmách a líhních může dokonce dosáhnout až 95–100 % (Hedrick *et al.* 1993). Epizootiologické studie ukazují, že jakmile je rybí hostitel vystaven nákaze parazitem *Tetracapsuloides bryosalmonae* a přežije, vyvine se u něj na následující roky odolnost vůči onemocnění PKD (Ferguson and Ball 1979, Foott *et al.* 1987).

Tento parazit způsobuje v rybích populacích značné ekonomické ztráty (Anderson *et al.* 1999a, Feist *et al.* 2001). Na kondici sladkovodních mechovek má přítomnost *Tetracapsuloides bryosalmonae* relativně malý vliv (Tops *et al.* 2009). Za zvláštních podmínek se může u mechovek zamořených parazity projevit zpomalení růstu, snížení počtu statoblastů a pokles líhnutí nových kolonií, nebo naopak tvorba prosperujících a gigantických zoidů, které by měly umožnit zvýšený přenos parazitů (Hartikainen *et al.* 2013).

## 4 MATERIÁL A METODIKA

V rámci řešení diplomové práce bylo provedeno několik typů experimentů, které byly uskutečněny v laboratorních podmínkách na Mendelově univerzitě v Brně a na sádkách firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově u Kamenice nad Lipou. Pokusy byly zaměřené na kultivaci, eliminaci mechovek a na detekci rybomerek v mechovkách.

### 4.1 Kultivace mechovek v laboratorních podmínkách

Pro pokus byla využita 4 skleněná akvária o rozměrech 44 x 31 x 25 cm a objemu 31 l. Výška vodního sloupce dosahovala 20 cm. Pro přehlednost byla označena písmeny A, B, C a D. Do akvárií byla zavedena aerace pomocí vzduchovacích kamenů. Prostor akvárií byl rozdělen přepážkou z polystyrénu (Obrázek 5), aby nedocházelo k nadměrnému víření vody. Kvůli simulaci temného prostředí, v němž se mechovky běžně nacházejí, byly akvária zatemněny použitím papírových krabic.



Obrázek 5: Rozdělení akvária polystyrenovou přepážkou

Akvária byla naplněna vodou z recirkulačního systému kruhových nádrží nacházejících se na univerzitě. Ze stejného systému byly odebrány i kolonie mechovky *Plumatella emarginata*. Prvním odběrným místem byla filtrační zařízení, druhým místem bylo potrubí na odtoku z kruhových nádrží. Kolonie byly odbírány seškrabem pomocí skalpelu. Tento způsob odběru se ukázal jako nejšetrnější a nejméně se při něm narušila struktura a celistvost kolonie.

Odebrané kolonie byly rozděleny na menší části o velikosti cca 2–3 cm<sup>2</sup>. Tyto části byly pak instalovány na speciálně upravené Petriho misky (Obrázek 6) o průměru 8,65 cm. Do středu každé misky byla přilepena zkumavka naplněná pískem. To způsobilo, že při ponoření do vody dnem vzhůru, zůstaly misky pod hladinou ve stabilní poloze. Aby se kolonie udržela v misce ještě před uchycením na ni, byla každá miska opatřena plastovou mřížkou.



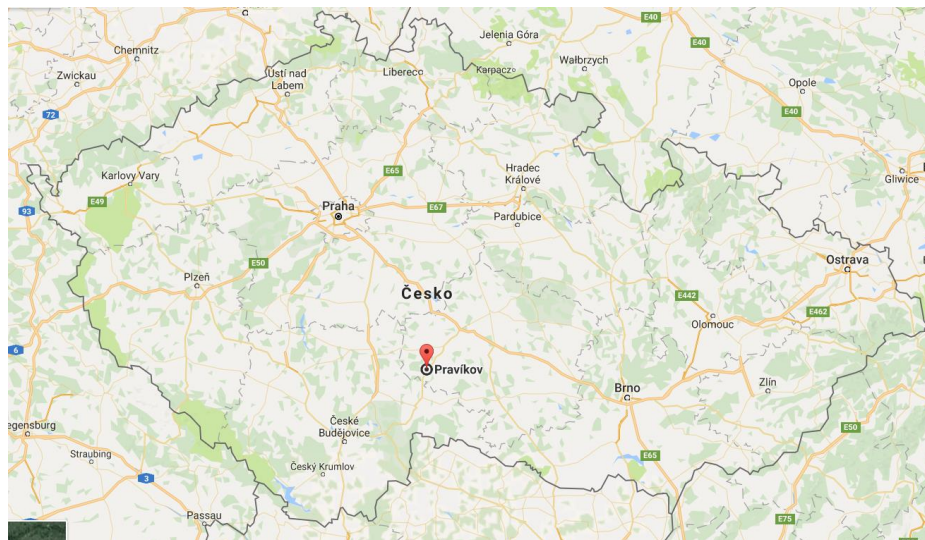
Obrázek 6: Speciálně upravené Petriho misky s plastovou mřížkou

Tento pokus proběhl ve dvou opakováních. Při prvním bylo do každého akvária nasazeno pět Petriho misek s částí kolonie označených vždy písmenem příslušného akvária a čísly 1–5. Potravu kolonie přijímaly pouze z organismů obsažených ve vodním prostředí, nebyly dále nijak přikrmovány. Při druhém opakování byly ke kultivaci mechovek využity pouze dvě akvária (A a B) se čtyřmi Petriho miskami. Potravu tvořily opět organismy obsažené ve vodě, a navíc byly přikrmovány každý třetí den 10 ml koncentrované směsi zelených řas, která se skládala z druhů *Chlorella kessleri*, *Acutodesmus obliquus* a *Raphidocelis subcapitata*. Průběžně byly sledovány hydrochemické parametry vody a odebraná voda byla doplňována vodou ze systému.

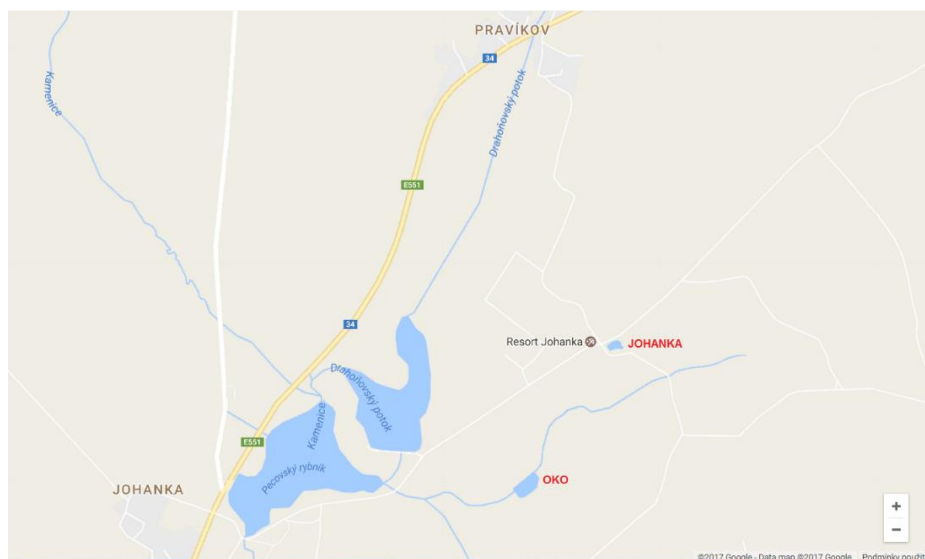
Volná akvária C a D při druhém opakování byla využita ke klíčení statoblastů. Ty pocházely z recirkulačního systému na Mendelově univerzitě v Brně. Po dobu 9 měsíců byly uskladněny ve zkumavce s vodou v chladničce při teplotě 5 °C a pak další 2 měsíce byly ponechány na sucho v Petriho misce při teplotě 20 °C. Tyto podmínky simulovaly různé období (zmrznutí, vyschnutí), kterými statoblasty ve volné přírodě běžně procházejí. Akvárium C bylo naplněno vodou ze systému a akvárium D bylo naplněno destilovanou vodou. Do každého akvária se umístily dvě Petriho misky s vysušenými statoblasty.

## 4.2 Detekce rybomerek v mechovkách

Při pokusu byly použity mechovky druhu *Plumatella fruticosa* a *Cristatella mucedo*, které byly potvrzeny jako hostitelské druhy *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Místa odběrů kolonií se nachází v blízkosti sádek firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově u Kamenice nad Lipou (Obrázek 7). Jedná se o dva rybníčky, které jsou součástí rybníční soustavy, jež je zdrojem vody pro recirkulační systém intenzivního chovu lososovitých ryb. V tomto chovu byl v dřívějších letech potvrzen výskyt onemocnění PKD způsobených zmíněnou *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Lokality byly označeny jako JOHANKA a OKO (Obrázek 8).



Obrázek 7: Pravíkov (google.cz/maps)



Obrázek 8: Situační mapa odběrových lokalit (google.cz/maps)

Vzorky mechovek byly odebírány v týdenních intervalech v období od 11.7.2016 do 29.8.2016. Celkem bylo odebráno 22 vzorků. Společně s odběrem vzorků byly monitorovány základní hydrochemické parametry rybníční vody.

Kolonie mechovek byly odebírány pomocí skalpelu a pinzety do plastových vzorkovnic a zkumavek. Jejich fixace byla prováděna formaldehydem na výslednou koncentraci 4 % a 70 % roztokem líhu. Takto fixované vzorky byly převezeny do Brna k dalšímu prozkoumání. Před vlastní detekcí byly vzorky řádně promyty vodou. Z každého vzorku byly odejmuty dvě části kolonie o velikosti do 1 cm<sup>2</sup>. Ty byly umístěny mezi dvě podložní sklička, kterými byly rozmáčknuty. Takto vytvořené dočasné preparáty byly připraveny k sledování pod mikroskopem.

### 4.3 Eliminace mechovek

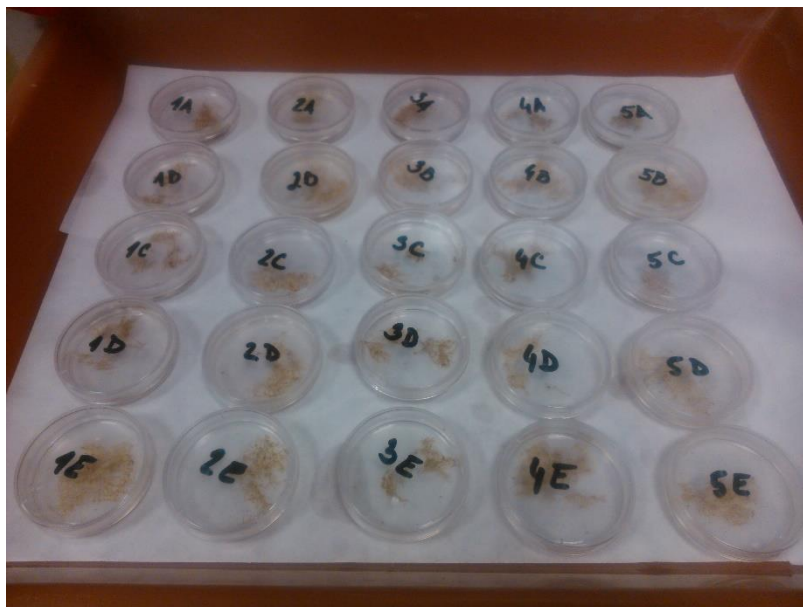
Pokus byl proveden v laboratorních podmínkách na mechovkách druhu *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*. Kolonie druhu *Plumatella emarginata* pocházely z filtračního zařízení a z potrubí na odtoku z kruhových nádrží, které jsou součástí modelového recirkulačního systému na Mendelově univerzitě v Brně. Kolonie druhu *Cristatella mucedo* pocházely z lokality OKO nacházející se v blízkosti sádek firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově u Kamenice nad Lipou. Odběr kolonií probíhal seškrabem pomocí skalpelu.

Kolonie byly následně v laboratoři rozděleny na části o velikosti cca 1–2 cm<sup>2</sup>. Tyto části byly přeneseny na Petriho misky o průměru 5,6 cm a zality odstátou vodou z vodovodního řadu. Takto připravené vzorky byly ponechány 24 hodin v klidu, aby u zkoumaného organismu došlo k aklimatizaci. Po uplynutí této doby bylo pomocí optického mikroskopu zkontrolováno, zda jsou organismy aktivní. Poté byly vystaveny působení vybraných chemikálií v různých koncentracích. Pro testování eliminace mechovek v zařízeních s intenzivním chovem ryb byly vybrány tři chemikálie, které jsou lehce dostupné a běžně se v rybářství využívají.

Použité chemikálie:

- Savo Original (1-5 % chlornan sodný a 0,1-1 % hydroxid sodný)
- Folmaldehyd
- Persteril (32-36 % kyselina peroxyoctová, 5-12 % peroxid vodíku, max. 25 % kyselina octová)

Každá z vybraných chemikálií byla namíchána v 11 koncentracích v procentuální řadě 1; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,00313; 0,00156 a 0,00078. U každé koncentrace bylo nachystáno 5 opakování (Obrázek 9). Pro kontrolu byl v 5 opakování připraven ještě vzorek s čistou odstátou kohoutkovou vodou.



Obrázek 9: Části kolonií druhu *Plumatella emarginata* v Petriho miskách před zalitím chemikálií

Organismům byla po aklimatizaci voda zaměněna za 10 ml roztoku chemikálie o příslušné koncentraci. Mechovky byly vystaveny působení chemikálie po dobu 30 minut, následně byl roztok opět zaměněn za odstátou vodu. Kolonie byly zanechány 60 minut bez manipulace a poté byla provedena kontrola číslo 1. Po dalších 60 minutách byla provedena kontrola číslo 2. U druhu *Plumatella emarginata* byla za dalších 120 minut provedena kontrola číslo 3. Při každé kontrole bylo náhodně vybráno 50 zooidů z kolonie, u nichž se pod optickým mikroskopem sledoval jejich stav a reakce. Neporušení zooidi, kteří reagovali na podmínky, byli spočítáni.



## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Kultivace mechovek v laboratorních podmínkách

#### 5.1.1 Hydrochemické parametry vody

Základní hydrochemické měření (teplota vody, obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě, nasycení vody kyslíkem a pH) bylo prováděno přístrojem firmy HACH. V následujících tabulkách jsou uvedeny hodnoty jednotlivých parametrů naměřené za celou dobu pokusu.

Tabulka 1: Teplota vody (°C)

Akvárium	Průměrná teplota (°C)	Nejnižší teplota (°C)	Nejvyšší teplota (°C)
A	21,8	21,2	22,9
B	21,5	20,5	22,6
C	21,4	20,4	22,4
D	21,4	20,4	22,2

Z tabulky 1 je patrné, že teplota vody byla ve všech akváriích poměrně vyrovnaná. Rozdíly v nejnižších a nejvyšších naměřených hodnotách jsou dány tím, že byla do akvárií doplňována voda z recirkulačního systému, která prostředí vždy mírně ochladila.

Druh *Plumatella emarginata* se běžně ve volných vodách vyskytuje v teplých eutrofních oblastech v hloubkách do 1 metru. Jedná se především o klidné stojaté vody jezer a řek, kde má dostatek přichytného materiálu (rostliny, dřevo, kameny). Například v mírných oblastech Severní Ameriky se vyskytují v největší míře na konci jara, když teplota vody vzroste nad 20 °C (Wood 2005). V laboratorních podmínkách se osvědčilo umístění kolonií do akvária s vodou střední tvrdosti, která byla intenzivně provzdušňována a pomocí ohřívačů vody se teplota vody udržuje na 21 °C (Morris *et al.* 2002).



Následující tabulka 2 ukazuje obsah rozpuštěného kyslíku a procentuální nasycení vody kyslíkem v jednotlivých akváriích.

Tabulka 2: Obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg/l) a nasycení vody kyslíkem (%)

<b>Akvárium</b>	<b>Průměrný obsah O<sub>2</sub> (mg/l)</b>	<b>Nejnižší obsah O<sub>2</sub> (mg/l)</b>	<b>Nejvyšší obsah O<sub>2</sub> (mg/l)</b>	<b>Průměrné nasycení O<sub>2</sub> (%)</b>	<b>Nejnižší nasycení O<sub>2</sub> (%)</b>	<b>Nejvyšší nasycení O<sub>2</sub> (%)</b>
<b>A</b>	8,38	8,18	8,58	96,8	95,5	97,8
<b>B</b>	8,34	8,09	8,56	95,6	94,5	96,6
<b>C</b>	8,33	8,11	8,54	95,5	94,1	96,7
<b>D</b>	8,35	8,13	8,56	95,5	94,3	96,6

Je patrné, že během pokusu nedocházelo k výrazným výkyvům obsahu kyslíku. Případné výkyvy by mohly negativně ovlivnit životnost nasazených kolonií mechovek.

Průměrné hodnoty pH v průběhu testu v jednotlivých akváriích jsou znázorněny v tabulce 3. Tyto průměrné hodnoty jsou doplněny údaji o nejvyšších a nejnižších naměřených hodnotách během testu.

Tabulka 3: Hodnoty pH

<b>Akvárium</b>	<b>Průměrné pH</b>	<b>Nejnižší pH</b>	<b>Nejvyšší pH</b>
<b>A</b>	7,65	7,48	7,93
<b>B</b>	7,68	7,50	8,05
<b>C</b>	7,69	7,48	8,07
<b>D</b>	7,80	7,63	8,06

Hodnoty pH zaznamenané v tabulce jsou v jednotlivých akváriích velmi vyrovnané a vykazují mírně zásadité prostředí.

Wood ve své práci z roku 2005 popisuje místa, kde se mechovky ve volných vodách běžně nevyskytují. Jsou to stanoviště s nízkým obsahem kyslíku a hodnotami pH pod 6, dále rychle proudící řeky a potoky, kde hladké a zaoblené kameny neumožní mechovkám dostatečně se přichytit k podkladu a jsou proudem odneseny. Také je nenajdeme na mastných, hnilobných nebo aktivně korodujících substrátech.

### 5.1.2 Výsledky kultivace *Plumatella emarginata* v laboratorních podmínkách

Kolonie *Plumatella emarginata* nasazené ve speciálně upravených Petriho miskách do akvárií se po 2–3 dnech začaly přichytávat ke stěnám misek. Po 14 dnech bylo 70 % kolonií přichycených k podkladu. Tyto kolonie se však dále nerozrůstaly a po 1 měsíci došlo v případě obou testů k úhynu všech kolonií.

Jako příčinu úhynu bych vyloučila nevyhovující teplotu, obsah rozpuštěného kyslíku a pH. Teplota vody byla udržována kolem 21 °C, což je shodné se studií Morrise *et al.* (2002). Voda byla rovněž dostatečně okysličená a pH nekleslo pod hodnotu 6. Jednou z možných příčin neúspěchu byla možnost poškození kolonií při odběru. Dalším problémem by mohlo být nedostatečné množství adekvátní potravy, které kolonie potřebují nebo také nestálost okolního prostředí (časté změny světelného režimu v laboratoři), protože kolonie preferují stinná místa (Lukešová 2011).

## 5.2 Detekce rybomerek v mechovkách

Cílem následující části bylo sledování a popsání životních cyklů vybraných druhů mechovek (*Plumatella fruticosa* a *Cristatella mucedo*) v přirozených podmínkách na dvou lokalitách, kde byla v minulosti prokázána nákaza parazitem *Tetracapsuloides bryosalmonae* a zjištění následného optimálního způsobu detekce rybomerek v odebraných vzorcích mechovek z těchto lokalit. Lokality se nachází v blízkosti sádek firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově a jedná se o dva lesní rybníčky, které jsou součástí rybníční soustavy, jenž je zdrojem vody pro zmíněné sádky.

### 5.2.1 Hydrochemické parametry vody

Základní hydrochemické měření (teplota vody, obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě, nasycení vody kyslíkem, pH a vodivost) bylo prováděno přístrojem firmy HACH. Dále byly odebírány vzorky kolonií mechovek k prozkoumání pod mikroskopem. Výsledky měření parametrů vody a počet odebraných vzorků mechovek jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5.

Tabulka 4: Výsledky měřených parametrů vody na lokalitě JOHANKA

Datum odběru	Lokalita	Teplota (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	O <sub>2</sub> (%)	pH	Vodivost (μS)	Počet vzorků
11.7.2016	Johanka	19,9	7,08	83,5	6,85	90	0
18.7.2016	Johanka	14,7	7,27	75,7	6,63	78	1
25.7.2016	Johanka	18,6	7,25	81,6	6,65	83	2
1.8.2016	Johanka	18,7			7,5	88	2
8.8.2016	Johanka	18,6	8,07	92,2	7,01	96	3
15.8.2016	Johanka	18,2	8,1	91,6	6,96	94	4
22.8.2016	Johanka	17,2	6,73	73,7	6,84	94	0
29.8.2016	Johanka	19,4	5,22	60,2	6,58	98	0

Tabulka 5: Výsledky měřených parametrů vody na lokalitě OKO

Datum odběru	Lokalita	Teplota (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	O <sub>2</sub> (%)	pH	Vodivost (μS)	Počet vzorků
11.7.2016	Okó	21	9,66	115,5	7,17	103	0
18.7.2016	Okó	16,5	6,3	67,9	6,3	87	0
25.7.2016	Okó	19,6	3,59	41,2	6,93	93	3
1.8.2016	Okó	19,4			7,31	98	3
8.8.2016	Okó	18,1	4,31	48,6	6,39	108	2
15.8.2016	Okó	17,2	7,46	82,2	6,68	103	2
22.8.2016	Okó	16,6	7,58	81,9	7,02	105	0
29.8.2016	Okó	18,3	5,18	58,7	8,84	106	0

Na sledovaných lokalitách se mechovky vyskytovaly v období od 11.7.2016 do 22.8.2016. Dne 11.7., když se teplota vody pohybovala kolem 20 °C a více, bylo na obou lokalitách nalezeno malé množství kolonií v počátečním stádiu vývoje. Od dalšího týdne, kdy už byly kolonie dostatečně rozvinuty, se začalo s odběrem vzorků. Dne 18.7. došlo k jednorázovému poklesu teploty vody o přibližně 5 °C. Ten byl způsoben intenzivními přivalovými dešti, které vodu v rybnících ochladily. Na kolonie mechovek neměla tato změna žádný negativní vliv. Dne 8.8. byla na lokalitě JOHANKA zjištěna převaha kolonií druhu *Plumatella fruticosa*. Druh *Cristatella mucedo* byl nalezen v malém množství, ale v dobrém kondičním stavu. Na lokalitě OKO byla naopak pozorována převaha druhu *Cristatella mucedo*, která ovšem nebyla v dobrém kondičním stavu. Dne 22.8., když teplota poklesla pod 17 °C, došlo k vymizení mechovek na obou lokalitách. Toto vymizení bylo trvalé, protože ani po opětovném zvýšení teploty o zhruba 2 °C, které bylo naměřeno dne 29.8., se kolonie mechovek znovu nerozvinuly.

V literatuře se uvádí, že k rozvoji kolonií druhu *Plumatella fruticosa* dochází, stoupne-li teplota vody nad 15–16 °C. Naopak klesne-li teplota pod 12 °C kolonie hynou (Michiel van der Waaij 2007). Michiel van der Waaij (2009) uvádí také, že kolonie druhu

*Cristatella mucedo* se aktivují později z jara, jakmile teplota vody stoupne nad 15–16 °C a umírá hned, jakmile teplota vody klesne pod 9–10 °C.

### **5.2.2 Výsledky detekce rybomerek v odebraných vzorcích mechovek**

Z celkem 22 odebraných vzorků bylo vytvořeno 44 preparátů, v nichž byla pod mikroskopem prohlédnuta vždy stovka zooidů. V těchto zooidech se nepodařilo nalézt žádná vývojová stadia parazita *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Zda byly kolonie infikovány nebo ne, nelze s jistotou prohlásit. Sledování probíhalo na koloniích fixovaných lihem, ovšem informace o detekci rybomerek v takto fixovaných vzorcích v literatuře zcela chybí. Morris *et al.* provedl v roce 2002 pokus, kdy se pokusil o infikování živých kolonií mechovek druhu *Plumatella repens* sporami parazita *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Tyto kolonie byly pak *in vivo* prohlíženy za pomoci inverzního mikroskopu až do doby, kdy byl v zooidech zpozorován první výskyt rybomerek.

## **5.3 Eliminace mechovek**

Cílem této části práce bylo vytvoření efektivní a v praxi využitelné metody eliminace mechovek v rybochovných zařízeních. Pokus byl proveden v laboratorních podmínkách na koloniích mechovek druhu *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*. Kolonie druhu *Plumatella emarginata* pocházely z modelového recirkulačního zařízení na Mendelově univerzitě v Brně. Kolonie druhu *Cristatella mucedo* pocházely z lokality v blízkosti sádek firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově.

Odebrané kolonie obou druhů byly vystaveny 30minutovému působení vybraných chemikálií v 11 různých koncentracích. Pro testování eliminace mechovek v zařízeních s intenzivním chovem ryb byly vybrány látky Savo Original, Persteril a formaldehyd, které jsou lehce dostupné a běžně se v rybářství využívají k dezinfekci a čištění zařízení.

### **5.3.1 Působení chemikálií na druh *Plumatella emarginata* – 1. test**

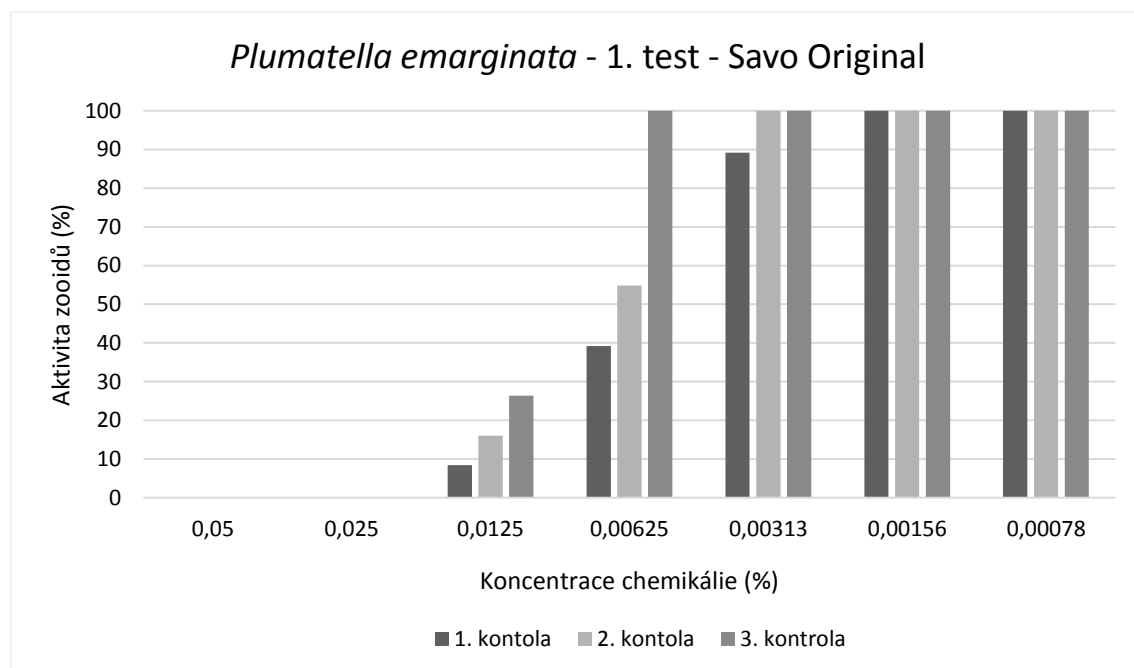
#### **Savo Original**

Prvním testovaným přípravkem bylo Savo Original, jehož hlavní aktivní látkou je chlornan sodný. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v roztoku koncentrací 0,025 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byli zataženi

uvnitř schránek. U varianty 0,0125 % byla aktivní minimální část kolonie (9 %). Reakce zooidů byly velmi zpomalené. U varianty 0,00625 % byla zjištěna aktivita u 40 % části kolonie. Reakce zooidů byla zpomalená. U varianty 0,00313 % byla aktivita zjištěna u naprosté většiny zooidů z kolonie (90 %), jejichž reakce byly normální. Při koncentracích 0,00156 % a nižších nebyly pozorovány žádné změny v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.

Při druhé kontrole bylo pozorováno pozvolné zotavování kolonií. U koncentrací 0,025 % a více nedošlo k žádným změnám. U varianty 0,0125 % byla zjištěna aktivita u 16 % zooidů, jejichž reakce byly normální. U varianty 0,00625 % byla aktivní přibližně polovina kolonie (55 %). U zooidů byly pozorovány normální reakce. Ve variantě 0,00313 % byla plně obnovena aktivita celé kolonie.

Při třetí kontrole došlo k regeneraci dalších částí kolonií u varianty 0,0125 % a úplnému zotavení kolonií u varianty 0,00625 %. U varianty 0,0125 % byla pozorována aktivita u 27 % části kolonie. Reakce zooidů byly normální. Přípravek Savo Original způsobilo úhyn celých kolonií při koncentracích 0,025 % a více. Při koncentracích 0,00625 % a méně již nebyla pozorována žádná změna v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.



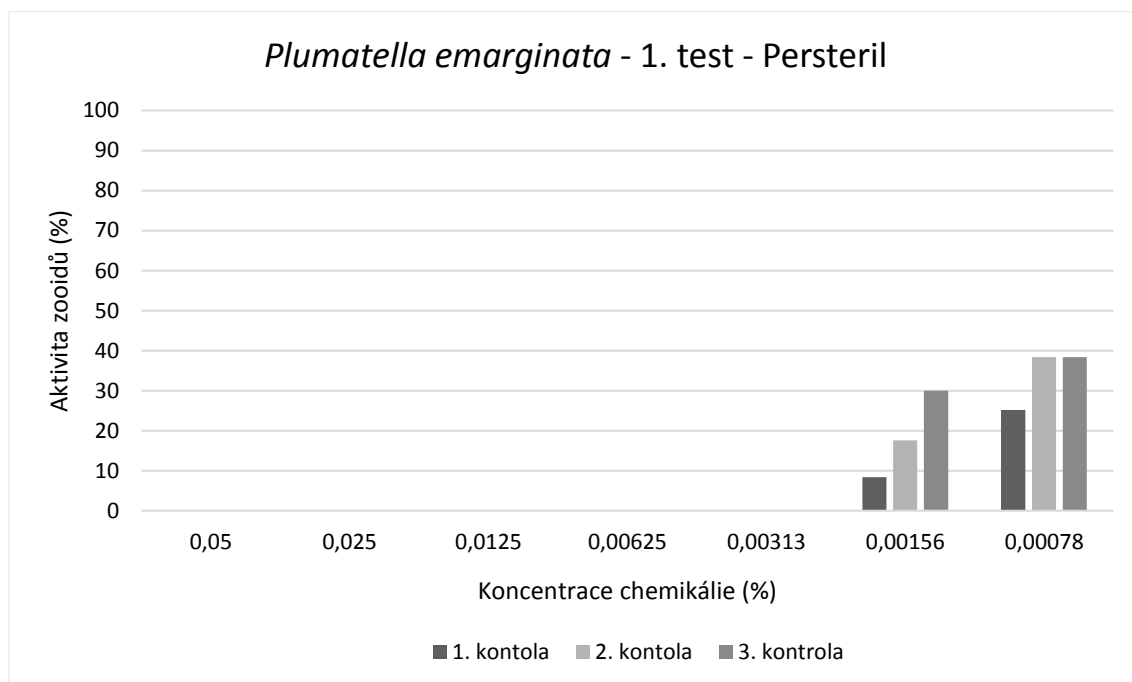
Graf 1: Působení přípravku Savo Original na druh *Plumatella emarginata* při 1. testu

## Persteril

Dalším testovaným přípravkem byl Persteril, jehož hlavní aktivní látkou je kyselina peroctová. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,00313 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byly zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00156 % byla aktivní minimální část kolonie (9 %). Reakce zooidů byly zpomalené. U varianty 0,00078 % byla zjištěna aktivita u 26 % části kolonie. Reakce aktivních zooidů byla normální.

Při druhé kontrole bylo pozorováno pozvolné zotavování kolonií, které bylo však výrazně pomalejší než u přípravku Savo Original. U koncentrací 0,00313 % a více nedošlo k žádným změnám. U varianty 0,00156 % byla zjištěna aktivita u minimálního počtu zooidů (18 %), jejichž reakce byly stále zpomalené. U varianty 0,00078 % byla aktivní 39 % část kolonie. U zooidů byly pozorovány normální reakce.

Při třetí kontrole nedošlo k další výrazné regeneraci kolonií. Přípravek Persteril způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,00313 % a více. U varianty 0,00156 % se aktivita zooidů pohybovala na 30 % a u varianty 0,00078 % byla aktivní 39 % část kolonie. Reakce zooidů byly v případě 0,00156 % koncentrace mírně zpomalené a v případě 0,00078 % koncentrace normální.



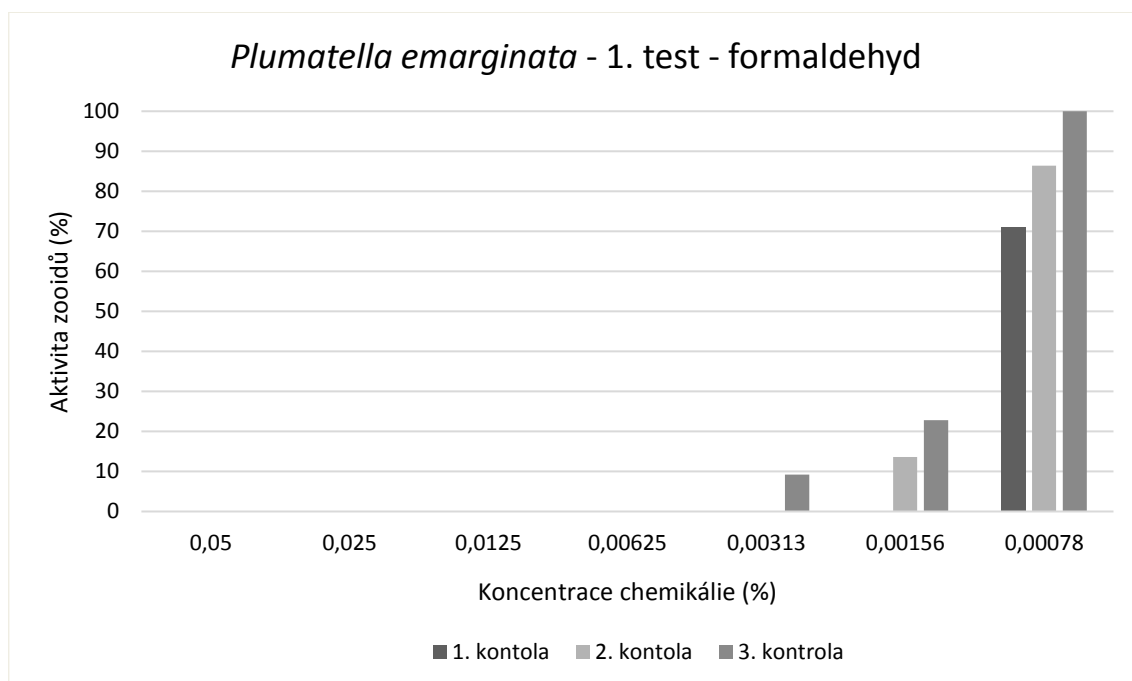
Graf 2: Působení přípravku Persteril na druh *Plumatella emarginata* při 1. testu

## Formaldehyd

Poslední testovanou látkou byl formaldehyd. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,00313 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byly zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00156 % byla pozorována zřetelná reakce na dotek, zooidi však byli rovněž zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00078 % byla aktivní naprostá většina kolonie (72 %). Reakce zooidů byly zpomalené.

Při druhé kontrole byla patrná částečná regenerace imobilizovaných kolonií. U koncentrací 0,00313 % a více nedošlo k žádným změnám. U varianty 0,00156 % byla zjištěna aktivita u minimálního počtu zooidů (14 %), jejichž reakce byly zpomalené. U varianty 0,00078 % byla aktivní naprostá většina kolonie (87 %). U zooidů byly pozorovány normální reakce, některé kolonie byly plně aktivní.

Při třetí kontrole došlo k další regeneraci kolonií. Přípravek formaldehyd způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,00625 % a více. U varianty 0,00313 % se aktivita zooidů pohybovala na 10 % a u varianty 0,00156 % byla aktivní 23 % část kolonie. Reakce zooidů byly v obou případech zpomalené. U varianty 0,00078 % došlo k úplnému obnovení aktivity všech kolonií.



Graf 3: Působení přípravku formaldehyd na druh *Plumatella emarginata* při 1. testu

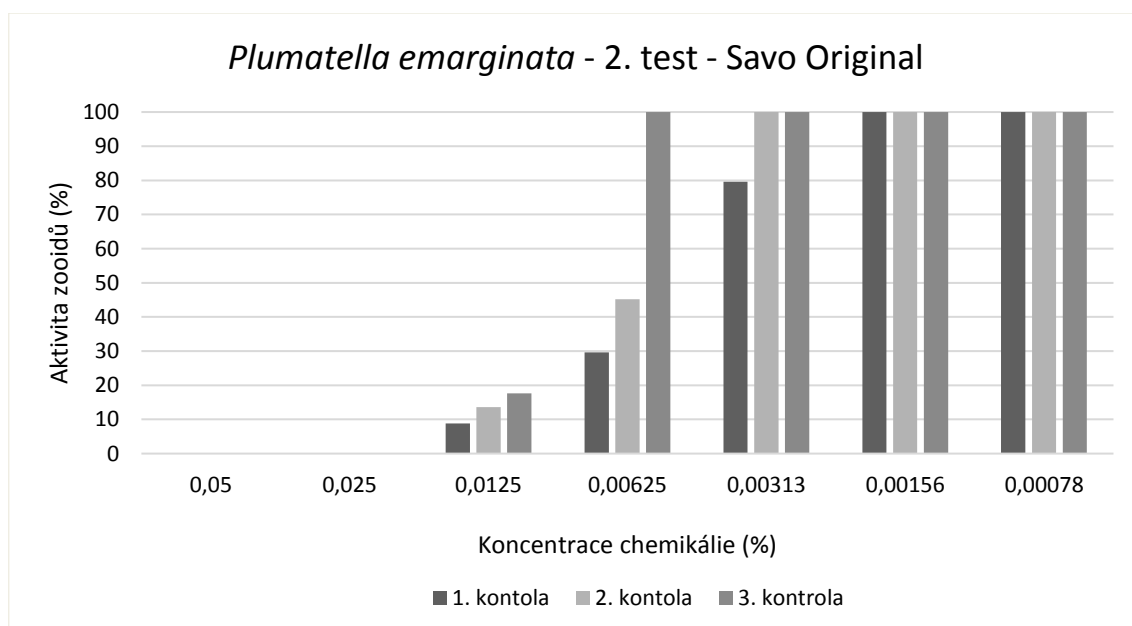
### 5.3.2 Působení chemikálií na druh *Plumatella emarginata* – 2. test

#### Savo Original

Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,025 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byli zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,0125 % byla aktivní minimální část kolonie (9 %). U varianty 0,00625 % byla zjištěna aktivita u 30 % části kolonie. U varianty 0,00313 % byla aktivita zjištěna u naprosté většiny zooidů z kolonie (80 %), jejichž reakce byly zpomalené. Při koncentracích 0,00156 % a nižších nebyly pozorovány žádné změny v reakcích zooidů.

Při druhé kontrole bylo pozorováno pozvolné zotavování kolonií. U koncentrací 0,025 % a více nedošlo k žádným změnám. U varianty 0,0125 % byla zjištěna aktivita u minimálního počtu zooidů (14 %), jejichž reakce byly zpomalené. U varianty 0,00625 % byla aktivní téměř poloviční část kolonie (46 %). U zooidů byly pozorovány zpomalené reakce. Ve variantě 0,00313 % byla plně obnovena aktivita celé kolonie.

Při třetí kontrole došlo k regeneraci dalších částí kolonií ve variantě 0,0125 % a úplnému zotavení kolonií ve variantě 0,00625 %. U varianty 0,0125 % byla pozorována aktivita u 18 % části kolonie. Reakce zooidů byly mírně zpomalené. Přípravek Savo Original způsobilo úhyn celých kolonií při koncentracích 0,025 % a více. Při koncentracích 0,00625 % a méně již nebyla pozorována žádná změna v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.



Graf 4: Působení přípravku Savo Original na druh *Plumatella emarginata* při 2. testu

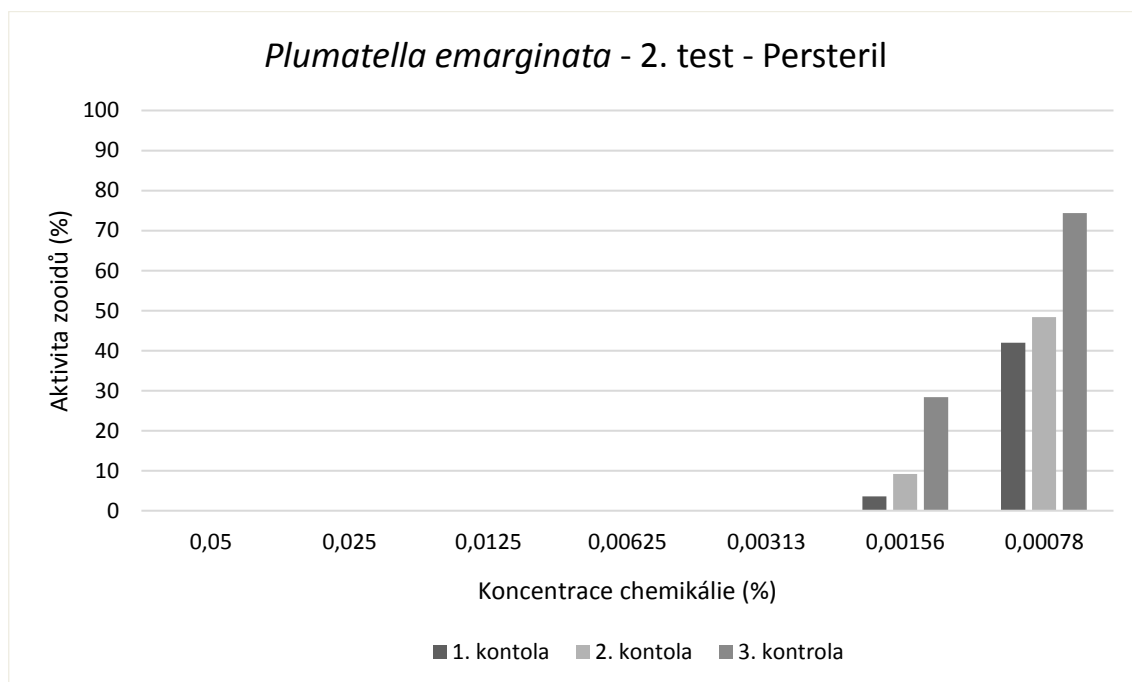


## Persteril

Dalším testovaným přípravkem byl Persteril, jehož hlavní aktivní látkou je kyselina peroctová. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,00313 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byly zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00156 % byla zjištěna aktivita u minimální části kolonie (4 %). Reakce zooidů byly zpomalené. U varianty 0,00078 % byla aktivní téměř poloviční část kolonie (42 %). Reakce aktivních zooidů byla normální.

Při druhé kontrole bylo pozorováno pozvolné zotavování kolonií, které bylo však výrazně pomalejší než u přípravku Savo Original. U koncentrací 0,00313 % a více nedošlo k žádným změnám. U varianty 0,00156 % byla zjištěna minimální aktivita zooidů (10 %), jejichž reakce byly stále zpomalené. U varianty 0,00078 % byla aktivní polovina kolonie (49 %). U zooidů byly pozorovány normální reakce.

Při třetí kontrole nedošlo k další výrazné regeneraci kolonií. Přípravek Persteril způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,00313 % a více. U varianty 0,00156 % se aktivita zooidů pohybovala na 29 % a u varianty 0,00078 % byla aktivní 75 % část kolonie. Reakce zooidů byly v případě 0,00156 % koncentrace mírně zpomalené a v případě 0,00078 % koncentrace normální.



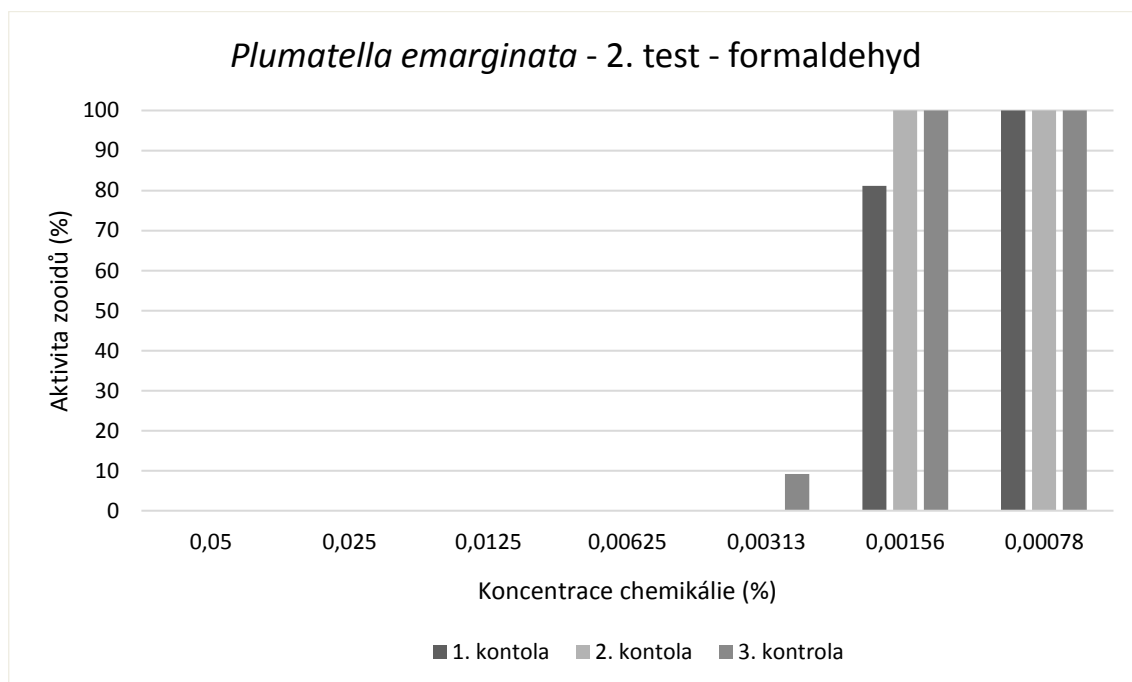
Graf 5: Působení přípravku Persteril na druh *Plumatella emarginata* při 2. testu

## Formaldehyd

Poslední testovanou látkou byl formaldehyd. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,00313 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byly zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00156 % byla pozorována aktivita u naprosté většiny kolonie (82 %). Reakce zooidů byly velmi zpomalené. Při koncentraci 0,00078 % nebyly pozorovány žádné změny v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.

Při druhé kontrole byla patrná částečná regenerace imobilizovaných kolonií. U koncentrací 0,00625 % a více nedošlo k žádným změnám, kolonie byly stále bez reakce. U varianty 0,00313 % byli zooidi stále zataženi uvnitř schránek, jejich reakce na podmínky byly však zřetelné. U varianty 0,00156 % byla aktivita celých kolonií plně obnovena. Reakce zooidů byly zpomalené.

Při třetí kontrole došlo k další regeneraci kolonií. Přípravek formaldehyd způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,00625 % a více. U varianty 0,00313 % bylo aktivní minimum zooidů (10 %). Reakce zooidů byly mírně zpomalené. Při koncentracích 0,00156 % a nižších nebyly pozorovány žádné změny v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.



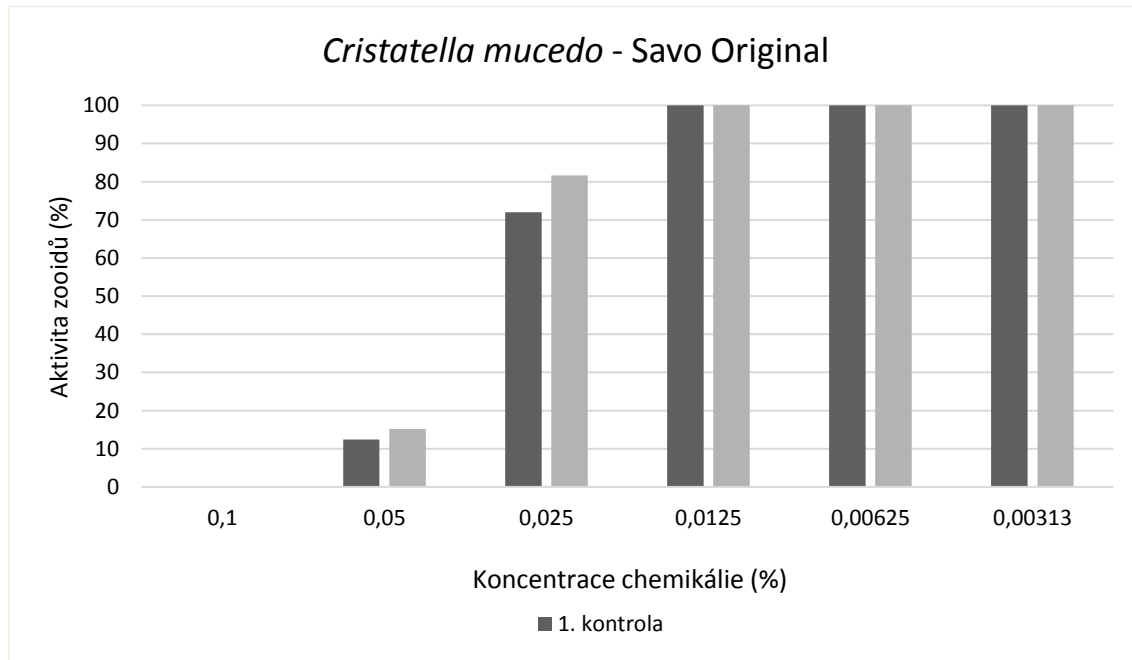
Graf 6: Působení přípravku formaldehyd na druh *Plumatella emarginata* při 2. testu

### 5.3.3 Působení chemikálií na druh *Cristatella mucedo*

#### Savo Original

Prvním použitým přípravkem bylo Savo Original s hlavní aktivní látkou chlornanem sodným. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,1 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byli zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,05 % byla zjištěna aktivita u 13 % části kolonie. Reakce zooidů byly velmi zpomalené. U varianty 0,025 % byla aktivní naprostá většina kolonie (72 %). Zooidi reagovali na podměty zpomalně. Při koncentracích 0,0125 % a nižších nebyly pozorovány žádné změny v reakcích zooidů, kolonie byly plně aktivní.

Při druhé kontrole došlo k mírné regeneraci částí kolonií. U varianty 0,05 % byla zjištěna aktivita u minimálního počtu zooidů (16 %), jejichž reakce byly zpomalené. U varianty 0,025 % se aktivita zvýšila na 82 %. Reakce zooidů byly mírně zpomalené. Přípravek Savo Original způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,1 % a více. Koncentrace 0,0125 % a méně neměly na stav zooidů žádný vliv, kolonie byly po celou dobu testu plně aktivní.

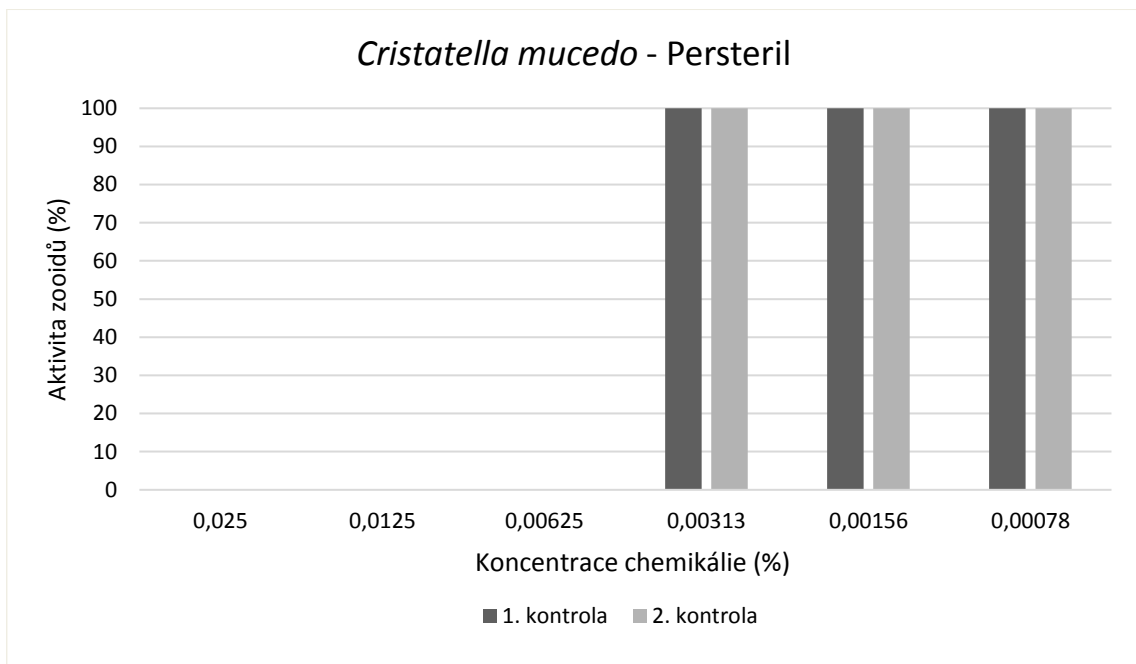


Graf 7: Působení přípravku Savo Original na druh *Cristatella mucedo*

## Persteril

Druhým použitým přípravkem byl Persteril s hlavní aktivní látkou kyselinou peroctovou. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,00625 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byli zataženi uvnitř schránek. U koncentrací 0,003125 % a nižších byla zjištěna aktivita všech zooidů. Kolonie byly plně aktivní.

Při druhé kontrole nebyly pozorovány žádné změny. Přípravek Persteril způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,00625 % a více. Koncentrace 0,003125 % a méně neměly na stav zooidů žádný vliv, kolonie byly po celou dobu testu plně aktivní.

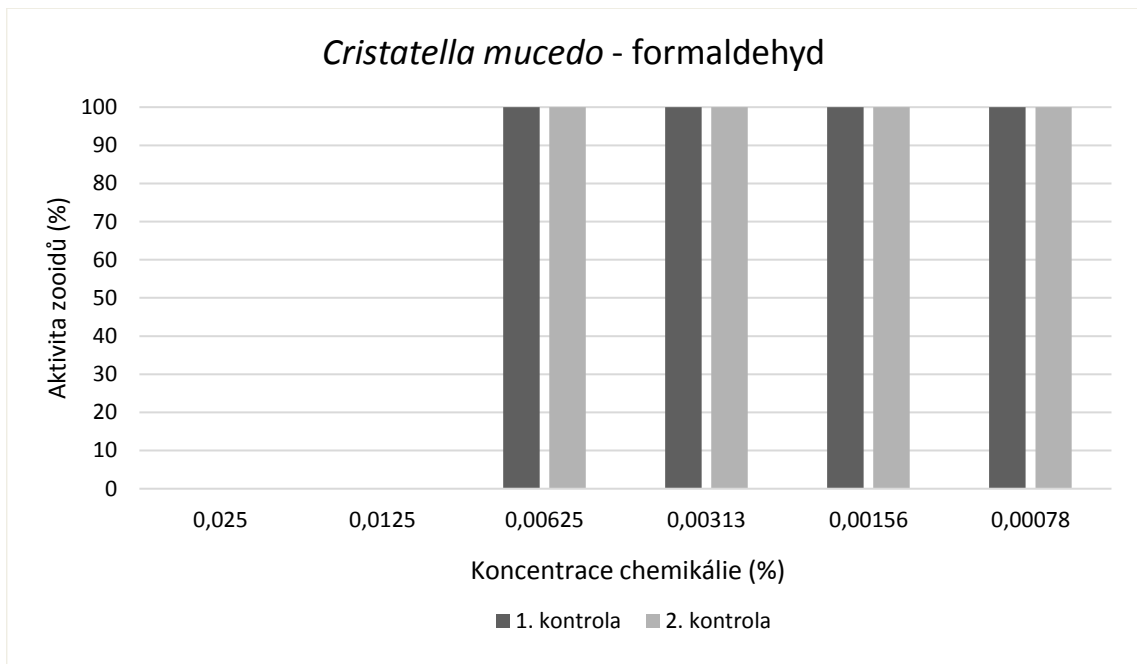


Graf 8: Působení přípravku Persteril na druh *Cristatella mucedo*

## Formaldehyd

Třetím použitým přípravkem byl formaldehyd. Při první kontrole provedené po 30 minutách působení byly kolonie v koncentracích 0,0125 % a vyšších zcela bez reakce. Všichni zooidi byli zataženi uvnitř schránek. U varianty 0,00625 % byla pozorována aktivita všech zooidů, kteří na podměty reagovali zpomaleně. U koncentrací 0,003125 % a nižších byla zjištěna aktivita všech zooidů. Kolonie byly plně aktivní.

Při druhé kontrole nebyly pozorovány žádné změny. Přípravek formaldehyd způsobil úhyn celých kolonií při koncentracích 0,0125 % a více. U varianty 0,00625 % zůstala aktivita všech zooidů zpomalená. Koncentrace 0,003125 % a méně neměly na stav zooidů žádný vliv, kolonie byly po celou dobu testu plně aktivní.



Graf 9: Působení přípravku formaldehyd na druh *Cristatella mucedo*

### 5.3.4 Srovnání druhů *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*

Z výsledků působení chemikálií na vybrané dva druhy mechovek vyplývá, že kolonie druhu *Cristatella mucedo* pocházející z volných vod jsou vůči působení těchto chemikálií značně odolnější a jejich regenerace probíhá rychleji než u druhu *Plumatella emarginata*. Kolonie druhu *Plumatella emarginata* odebrané z modelového recirkulačního systému byly usmrceny několikanásobně nižšími koncentracemi použitých chemikálií. V případě přípravku Savo Original se jednalo o čtyřnásobně nižší koncentraci a při použití přípravků Persteril a formaldehyd byla tato koncentrace nižší dvojnásobně.

### 5.3.5 Letální koncentrace pro mechovky a ryby

V tabulce 6 jsou zaznamenány letální dávky použitých chemikálií na mechovky druhu *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo* a na *Oncorhynchus mykiss* (pstruh duhový), který je v akvakultuře na území ČR nejčastěji chovaným zástupcem lososovitých ryb.

Tabulka 6: Letální koncentrace použitých chemikálií pro mechovky a ryby

	Savo Original (chlornan sodný) (mg/l)	Persteril (kyselina peroctová) (mg/l)	formaldehyd (mg/l)
<i>Plumatella emarginata</i>	0,93	2,37	0,69
<i>Cristatella mucedo</i>	3,72	4,53	1,38
<i>Oncorhynchus mykiss</i> 96 h LC50	0,2	0,53	24

Po přepočtu letální koncentrace chlornanu sodného (hlavní aktivní látka přípravku Savo Original) pro mechovky vychází pro druh *Plumatella emarginata* 0,93 mg/l a pro druh *Cristatella mucedo* 3,72 mg/l. Tyto hodnoty značně převyšují letální koncentrace pro ryby i další vodní živočichy. Pro pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) se udává hodnota 96 h LC50 0,2 mg/l a pro perloočky (*Daphnia magna*) je tato hodnota 48 h EC50 0,141 mg/l (Bezpečnostní list, Penta 2012).

Letální dávka kyseliny peroctové (hlavní aktivní látka přípravku Persteril) pro mechovky byla pro druh *Plumatella emarginata* 2,37 mg/l a pro druh *Cristatella mucedo* 4,53 mg/l. Tyto hodnoty jsou opět několikanásobně vyšší než letální koncentrace pro ryby a další vodní živočichy. Toxicita kyseliny peroctové na druh *Oncorhynchus mykiss* je 96 h LC50 0,53 mg/l a pro perloočky (*Daphnia magna*) je tato hodnota o něco vyšší 48 h EC50 0,73 mg/l (Bezpečnostní list, EuroŠarm 2015). Vůči působení kyseliny peroctové je poměrně odolný i zástupce korýšů rak signální (*Pacifastacus leniusculus*). Pro dospělé jedince tohoto druhu je stanovena hodnota 96 h LC50 77,3 mg/l (Kouba *et al.* 2012).

Letální dávka formaldehydu byla pro druh *Plumatella emarginata* 0,69 mg/l a pro druh *Cristatella mucedo* 1,38 mg/l. Při krátkodobém působení nejsou tyto hodnoty letální pro ryby ani jiné vodní bezobratlé živočichy. Pro pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) se udává hodnota 96 h LC50 24 mg/l a pro perloočky (*Daphnia magna*) je tato hodnota 48 h EC50 42 mg/l (Bezpečnostní list, Penta 2004). Pro použití formaldehydu v systémech s intenzivním chovem ryb je rozhodující jeho působení na bakteriální společenstvo biofiltru. Při koncentraci 90 mg/l nemá formaldehyd žádný vliv na bakterie oxidující amoniak, nicméně při koncentracích vyšších než 40 mg/l dochází k výraznému ovlivnění nitrifikačních bakterií (Keck a Blanc 2002). V jiné studii byla pro smíšenou bakteriální kulturu prokázána hodnota 120 h EC50 34,1 mg/l (Tisler a Zagorc-Koncan 1997).

### 5.3.6 Ekonomické zhodnocení

Při celkovém vyhodnocení efektu opatření je nezbytné vyjádření nákladů na takový zásah. Vzhledem k tomu, že pracovníci v praxi by mohli mít problémy s rozlišením jednotlivých druhů mechovek, byly vzaty v úvahu vyšší hodnoty potřebné k usmrcení odolnějšího druhu *Cristatella mucedo*. Z ekonomického hlediska se jeví jako nejlevnější varianta (30 Kč/m<sup>3</sup>) použití přípravku Savo Original. Nicméně potřebná koncentrace (0,1 % roztok), která usmrtí mechovky je smrtelná i pro ryby. Proto lze tento přípravek použít pouze pro zařízení, které je dočasně bez ryb. Nejdražší varianta (37,4 Kč/m<sup>3</sup>) je přípravek formaldehyd, který usmrtil mechovky při koncentraci (0,0125 % roztok), která je nižší než letální koncentrace pro ryby. Pro zařízení s rybí obsádkou lze teda doporučit právě tento přípravek. Rozdíly cen pro malé objemy vody mohou být na první pohled minimální a zavádějící, proto byly náklady na usmrcení mechovek přepočítány i pro modelové recirkulační zařízení o objemu 1000 m<sup>3</sup> (tabulka 7).

V takovém zařízení se pak výsledná cena jednorázové desinfekce, která spolehlivě usmrtí mechovky, liší v řádech tisíců korun (Mareš *et al.* 2016).

Tabulka 7: Náklady na eliminaci mechovek v modelovém systému o objemu 1000 m<sup>3</sup> a potřebný objem přípravků na 1 m<sup>3</sup>

	<i>Plumatella emarginata</i>		<i>Cristatella mucedo</i>	
	náklady na 1000 m <sup>3</sup> (Kč)	objem přípravku na 1 m <sup>3</sup> (ml)	náklady na 1000 m <sup>3</sup> (Kč)	objem přípravku na 1 m <sup>3</sup> (ml)
Savo Original (konc.)	7 500	250	30 000	1 000
Persteril (36%)	17 700	86,3	35 400	172,5
formaldehyd (37%)	18 700	170	37 400	340



## 6 ZÁVĚR

V rámci řešení diplomové práce bylo provedeno několik typů experimentů, které byly uskutečněny v laboratorních podmínkách na Mendelově univerzitě v Brně a na sádkách firmy BioFish s.r.o. v Pravíkově u Kamenice nad Lipou. Prvním z nich byl pokus o kultivaci mechovek druhu *Plumatella emarginata* v laboratorních podmínkách. Po 14 dnech od nasazení kolonií do akvárií došlo k přichycení k podkladu. Kolonie však nebyly schopny dále se rozrůstat a po 1 měsíci došlo k úhynu všech kolonií. Vedle sledovaných parametrů vody (teplota, obsah rozpuštěného kyslíku, pH) je třeba sledovat i další proměnné, které mohly mít vliv na výsledek pokusu (např. obsah dalších látek ve vodě (fosforečnany, chloridy, dusitany a dusičnany), množství a složení krmiva, intenzita osvětlení).

Druhým experimentem bylo zjištění optimálního způsobu detekce rybomerek v odebraných vzorcích vybraných druhů mechovek pocházejících z dvou lokalit v Pravíkově, kde byla v minulosti prokázána nákaza parazitem *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Z celkem 22 odebraných vzorků bylo vytvořeno 44 preparátů, v nichž byla pod mikroskopem prohlédnuta vždy stovka zooidů. V těchto zooidech se nepodařilo nalézt žádná vývojová stádia parazita *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Dalším možným způsobem detekce je PCR – polymerázová řetězová reakce, která lze využít k detekci DNA malacosporeí ve vzorcích tkání z ryb nebo částech kolonií mechovek. Tato metoda nebyla v práci ověřována, ale je to návrh do budoucna.

Posledním pokusem bylo vytvoření efektivní a v praxi využitelné metody eliminace mechovek v rybochovných zařízeních. Pokus byl proveden v laboratorních podmínkách na koloniích mechovek druhu *Plumatella emarginata* a *Cristatella mucedo*. Pro testování eliminace mechovek v zařízeních s intenzivním chovem ryb byly v různých koncentracích využity tři chemikálie (Savo Original, Persteril, formaldehyd), které jsou lehce dostupné a běžně se v rybářství využívají. Použité přípravky způsobily u druhu *Plumatella emarginata* úhyn celých kolonií při koncentracích: Savo Original 0,025 %, Persteril 0,00313 % a formaldehyd 0,00625 %. U druhu *Cristatella mucedo* způsobily použité přípravky úhyn celých kolonií při koncentracích: Savo Original 0,1 %, Persteril 0,00625 % a formaldehyd 0,0125 %. Z výsledků působení chemikálií na vybrané dva druhy mechovek vyplývá, že kolonie druhu *Cristatella mucedo* pocházející z volných vod jsou vůči působení těchto chemikálií značně odolnější a jejich regenerace probíhá rychleji

než u druhu *Plumatella emarginata*, který pocházel z modelového recirkulačního zařízení. Formaldehyd je jediným testovaným přípravkem, který lze využít v zařízení s rybami, protože koncentrace potřebná k usmrcení kolonií mechovek je nižší než letální koncentrace pro lososovité ryby. Při využití formaldehydu o koncentraci 1,38 mg/l vychází náklady na eliminaci mechovek v modelovém systému o objemu 1000 m<sup>3</sup> na 37,5 tis. Kč. Z ekonomického hlediska se jeví jako nejlevnější varianta použití přípravku Savo Original. Nicméně koncentrace, která usmrtí mechovky je smrtelná i pro ryby. Proto lze tento přípravek použít pouze pro zařízení, která jsou dočasně bez ryb.

Práce je zaměřená pouze na eliminaci živých zooidů. Je však třeba dalších testů, které odhalí, co se stane se statoblasty uvolněných z uhynulých kolonií.

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANDERSON C. L., CANNING E. U., OKAMURA B., 1999a: 18S rDNA sequences indicate that PKX organism parasites Bryozoa. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19, 94–97.

ANDERSON C. L., CANNING E. U., OKAMURA B., 1999b: Molecular data implicate bryozoans as hosts for PKX (Phylum Myxozoa) and identify a clade of bryozoan parasites within the Myxozoa. *Parasitology*, 119, 555–561.

BALOUNOVÁ Z., RAJCHARD J., ŠVEHLA J., ŠMAHEL L., 2011: The onset of invasion of bryozoan *Pectinatella magnifica* in South Bohemia (Czech Republic). *Biologia*, 66, 1091–1096.

BARTHOLOMEW J. L., ATKINSON S. D., HALLETT S. L., LOWENSTINE L. J., GARNER M. M., GARDINER C. H., RIDEOUT B. A., KEEL M. K., BROWN J. D., 2008: Myxozoan parasitism in waterfowl. *International Journal of Parasitology*, 38, 1199–1207.

BISBY F. A., ROSKOV Y. R., ORRELL T. M., NICOLSON D., PAGLINAWAN L. E., BAILLY N., KIRK P. M., BOURGOIN T., BAILLARGEON G., OUVREARD D., eds., 2011: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: 2011 Annual Checklist.

BOCK P., 2015: Phil Bock, eds. "Cristatella Cuvier, 1798". *World list of Bryozoa*. World Register of Marine Species.

BÜTSCHLI O., 1881: Myxosporidien. *Zoologische Jahrbücher*, 1, 162–164.

CALLAGHAN T. P., KARLSON R., June 2002: Summer dormancy as a refuge from mortality in the freshwater bryozoan *Plumatella emarginata*. *Oecologia*, 132, 51–59.

CANNING E. U., CURRY A., FEIST S. W., LONGSHAW M., OKAMURA B., 2000: A new class and order of myxozoans to accommodate parasites of bryozoans with ultrastructural observations on *Tetracapsula bryosalmonae* (PKX organism). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 47, 456–468.

CANNING E. U., CURRY A., FEIST S. W., LONGSHAW M., OKAMURA B., 1999: *Tetracapsula bryosalmonae* n. sp. for PKX organism, the cause of PKD in salmonid fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19, 203–206.

CANNING E. U., CURRY A., HILL S. L. L., OKAMURA B., 2007: Ultrastructure of *Buddenbrockia allmani* n. sp. (Myxozoa, Malacosporea), a parasite of *Lophopus crystallinus* (Bryozoa, Phylactolaemata). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54, 247–262.

CANNING E. U., OKAMURA B., CURRY A., 1996: Development of a myxozoan parasite *Tetracapsula bryozoides* gen. n. et sp. n. in *Cristatella mucedo* (Bryozoa: Phylactolaemata). *Folia Parasitologica*, 43, 249–261.

CANNING E. U., OKAMURA B., CURRY A., 1997: A new microsporidium, *Nosema cristatellae* n. sp. In the bryozoan *Cristatella mucedo* (Bryozoa, Phylactolaemata). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70, 177–183.

CANNING E. U., TOPPS S., CURRY A., WOOD T., OKAMURA B., 2002: Ecology, development and pathogenicity of *Buddenbrockia plumatellae* Schröder, 1910 (Myxozoa, Malacosporea) (syn. *Tetracapsula bryozoides*) and establishment of *Tetracapsuloides* n. gen. for *Tetracapsula bryosalmonae*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49, 280–295.

DOHERTY P. J., 2001: "The Lophophorates". In ANDERSON D. T. *Invertebrate Zoology* (2 ed.). *Oxford University Press*, 363–373.

EIRAS J. C., 2005: An overview on the myxosporean parasites in amphibians and reptiles. *Acta Parasitologica*, 50, 267–275.

ERNST A., 2007: A cystoporate bryozoan species from the Zechstein (Late Permian). *Paläontologische Zeitschrift*, 81(2), 113–117.

EUROŠARM, 2015: *Bezpečnostní list*. [cit. 16.4.2017]. Dostupné z: [http://www.profarm.cz/imgs/products/datacon/persteril\\_15.pdf](http://www.profarm.cz/imgs/products/datacon/persteril_15.pdf). [Online]

FEIST S. W., LONGSHAW M., CANNING E. U., OKAMURA B., 2001: Induction of proliferative kidney disease (PKD) in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* via the

bryozoan *Fredericella sultana* infected with *Tetracapsula bryosalmonae*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 45, 61–68.

FERGUSON H. W., BALL H. J., 1979: Epidemiological aspects of proliferative kidney disease among rainbow trout *Salmo gairdneri*. Richardson in Northern Ireland. *Journal of Fish Diseases*, 2, 219–225.

FOOTT J. S., ROSEMARK R., HEDRICK R. P., 1987: Seasonal occurrence of the infections of stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *Journal of Fish Biology*, 30, 477–484.

FREEMAN M. A., SHINN A. P., 2011: Myxosporean hyperparasites of gill monogeneans are basal to the Multivalvulida. *Parasites and Vectors*, 4, 220.

FRIEDRICH C., INGOLIC F., FREITAG B., KASTBERGER G., HOHMANN V., SKOFITSCH G., NEUMEISTER U., KEPKA O., 2000: A myxozoan-like parasite causing xenomas in the brain of the mole *Talpa europaea*. *Parasitology*, 121, 483–492.

FUCHS J., OBST M., SUNDBERG P., July 2009: The first comprehensive molecular phylogeny of Bryozoa (Ectoprocta) based on combined analyses of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(1), 225–233.

GORDON D., 2003: Living Lace. *New Zealand Geographer*, 61, 80-95.

GRABNER D. S., EL-MATBOULI M., 2010: Experimental transmission of malacosporean parasites from bryozoans to common carp (*Cyprinus carpio*) and minnow (*Phoxinus phoxinus*). *Parasitology*, 137, 629–639.

HARTIGAN A., FIALA I., DYKOVÁ I., ROSE K., PHADEL D. N., ŠLAPETA J., 2012: New species of Myxosporea from frogs and resurrection of the genus *Cystodiscus* Lutz, 1889 for species with myxospores in gallbladders of amphibians. *Parasitology*, 139, 478–496.

HARTIKAINEN H., FONTES I., OKAMURA B., 2013: Parasitism and phenotypic change in colonial hosts. *Parasitology*, 140, 1403–1412.

HEDRICK R. P., MCCONNELL E., DE KINKELIN P., 1993: Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3, 277–290.

HRABCOVÁ M., 2015: *Biology, life cycle and phylogeny of Malacosporeans in fish and bryozoans*. Master thesis, University of South Bohemia in České Budějovice, 60 s.

KECK N., BLANC G., 2002: Effects of formalin, chemotherapeutic treatments on biofilter efficiency in a marine recirculating fish farming system. *Aquatic living resources*, 5, 361–370.

KENT M. L., ANDREE K. B., BARTHOLOMEW J. L., EL-MATBOULI M. AND 12 OTHERS, 2001: Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48, 395–413.

KENT M. L., HEDRICK R. P., 1985: PKX, the causative agent of proliferative kidney disease (PKD) in Pacific salmonid fishes and its affinities with the Myxozoa. *The Journal of Protozoology*, 33, 254–260.

KORÁBEK O., 2009: Pásnice, mechovky a mechovnatci České republiky. *OKA* 7, 1–6.

KOUBA A., KUKLINA I., NIKSIRAT H., MACHOVÁ J., KOZÁK P., 2012: Tolerance of signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) to Persteril 36 supports use of peracetic acid in astaciculture. *Aquaculture*, 350, 71–74.

LOM J., DYKOVÁ I., 2006: Myxozoan genera: definition on notes and taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitologica*, 53, 1–36.

LUKEŠOVÁ P., 2011: *Šíření mechovky Pectinatella magnifica v oblasti Třeboňska*. Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 131 s.

MARCUS E., 1941: Sobre Bryozoa do Brasil. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Univerzita São Paulo*, 5, 3–208.

MAREŠ L., ŘEZNÍČKOVÁ P., BRUMOVSKÁ V., 2016: *Eliminace původce onemocnění PKD v intenzivním chovu ryb*. In: *Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péči v recirkulačním systému*. Sborník příspěvků. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016, 36–40.

MASSARD J. A., GEIMER G., 2008a: Global diversity of bryozoans (Bryozoa or Ectoprocta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 93-99.

MCKINNEY F. K., JACKSON J. B. C., 1991: "Bryozoans as modular machines". *Bryozoan evolution*. University of Chicago Press. pp. 1–13.

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY, Evropský rybářský fond, 2013: *Víceletý strategický plán pro akvakulturu*. MZe ČR, Praha. 99 s.

MONTEIRO A. S., OKAMURA B., HOLLAND P. W. H., 2002: Orphan worm finds a home: *Buddenbrockia* is a myxozoan. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 968–971.

MORRIS D. J., MORRIS S. CH., ADAMS A., 2002: Development and release of a malacosporean (Myxozoa) from *Plumatella repens* (bryozoa: Phylactolaemata). *Folia Parasitologica*, 49, 25–34.

MORRIS D. J., ADAMS A., 2006: Transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea), the causative organism of salmonid proliferative kidney disease, to the freshwater bryozoan *Fredericella sultana*. *Parasitology*, 133, 701–709.

MORRIS D. J., FERGUSON H. W., ADAMS A., 2005: Severe, chronic proliferative kidney disease (PKD) induced in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* held at a constant 18 °C. *Diseases of Aquatic Organisms*, 66, 222–226.

ODA S., 1959: Germination of the statoblasts in freshwater Bryozoa. *Sei. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku*, 9(185), 90–131.

ODA S., MUKAI H., 1985: *Fine surface structure of the statoblasts of higher phylactolaemate bryozoans*. *Bryozoa: Ordovician to Recent*. Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark, voir p. 233

OKAMURA B., CURRY A., WOOD T. S., CANNING E. U., 2002: Ultrastructure of *Buddenbrockia* identifies it as a myxozoan and verifies the bilaterian origin of the Myxozoa. *Parasitology*, 124, 2115–223.

OKAMURA B., 1996: Occurrence, prevalence, and effects of the myxozoan *Tetracapsula bryozoides* parasitic in the freshwater bryozoan *Cristatella mucedo* (Bryozoa: Phylactolaemata). *Folia Parasitologica*, 43, 262–266.

OKAMURA B., CANNING E. U., 2003: Orphan worms and homeless parasites enhance bilaterian diversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 633–639.

ØKLAND K. A., ØKLAND J., 2000: Freshwater bryozoans (Bryozoa) of Norway: distribution and ecology of *Cristatella mucedo* and *Paludicella articulata*. *Hydrobiologia*, 421(1), 1-24.

PALÍKOVÁ M., PAPEŽÍKOVÁ I., KOVÁČOVÁ V., JELÍNKOVÁ E., MARKOVÁ Z., NAVRÁTIL S., VOJTEK L., HYRŠL P., MAREŠ J., 2016: *Proliferativní onemocnění ledvin Pstruha duhového v podmínkách intenzivního chovu: patogeneze, druhová vnímavost, terapeutický efekt NaCl*. In: *Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péči v recirkulačním systému*: Sborník příspěvků. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016, 30–35.

PENTA, 2004: *Bezpečnostní list*. [cit. 16.4.2017]. Dostupné z: <http://www.pstruharstvi.cz/soubory/latky-chovu/formaldehyd.pdf>. [Online]

PENTA, 2012: *Bezpečnostní list*. [cit. 16.4.2017]. Dostupné z: [http://www.pentachemicals.eu/bezp\\_listy/ch/bezplist\\_197.pdf](http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/ch/bezplist_197.pdf). [Online]

PLEHN M., 1924: *Praktikum der Fischkrankheiten*. Schweizerbart'sche, Stuttgart, 423–424.

PRUNESCU C. C., PRUNESCU P., PUCEK Z., LOM J., 2007: The first finding of myxosporean development from plasmodia to spores in terrestrial mammals: *Soricimixum fegati* gen. et sp. n. (Myxozoa) from *Sorex araneus* (Soricomorpha). *Folia Parasitologica*, 54, 159–164.

REYNOLDS J. D., 1976: Occurrence of freshwater bryozoans, *Cristatella mucedo*-Cuvier, in British-Columbia, *Syesis*, 9, 365-366.

ROGICK M. D., 1940: The viability of dried statoblasts of several species. *Growth*, 4(3), 315-322.

RUPPERT E. E., FOX R. S., BARNES R. D., 2004: Lophoporata. *Invertebrate Zoology* (7 ed.). Brooks / Cole. pp. 829–845. ISBN 0-03-025982-7.

SEAGRAVE C., BUCKE D., ALDERMAN D., 1980: The causative agent of proliferative kidney disease may be a member of the Haplosporidia. In: AHNE W. *Fish diseases Third COPRAQ Session*. Springer-Verlag, Berlin, 174–181.



SEDLÁK E., 2002: *Zoologie bezobratlých*, druhé přepracované vydání, Masarykova univerzita v Brně, 336 s.

SHRIVASTAVA P., RAO K. S., 1985: Ecology of *Plumatella emarginata* (Ectoprocta: Phylactolaemata) in the surface waters of Madhya Pradesh with a note on its occurrence in the protected waterworks of Bhopal (India). *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 39(2), 123-130.

SCHMIDT-POSTHAUS H., BETTGA K., FORSTER U., SEGNER H., WAHLI T., 2012: Kidney pathology and parasite intensity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* surviving proliferative kidney disease: time course and influence of temperature. *Diseases of Aquatic Organisms*, 97, 207–218.

SCHRÖDER O., 1912: Zur Kenntnis der *Buddenbrockia plumatellae* Schröder. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 102, 79–91.

SMRŽ J., 2013: *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. Karolinum, 192 s. ISBN: 978-80-246-2258-3

SVOBODOVÁ, Zdeňka. *Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb*. 4., přeprac. vyd. Praha: Informatorium, 2007. ISBN 9788073330514.

ŠETLÍKOVÁ I., BALOUNOVÁ Z., LUKAVSKÝ J., RAJCHARD J., 2005: Nepůvodní druh mechovky na Třeboňsku. *Živa* LIII, 4, 172–174.

THORP J. H., ROGERS D. CH., 2014: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates: Ecology and General Biology, Edition 4, *Academic Press*, 327-345.

THORPE J. P., MUNDY S. P., 1980: Biochemical genetics and taxonomy in *Plumatella emarginata* and *Plumatella repens* (Bryozoa: Phylactolaemata). *Freshwater Biology*, 10(4), 361-366.

TISLER T., ZAGORC-KONCAN J., 1997: Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water air and soil pollution*, 97, 315–322.

TOPS S., HARTIKAINEN H., OKAMURA B., 2009: The effects of infection by *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa) and temperature on *Fredericella sultana* (Bryozoa). *International Journal for Parasitology*, 39, 1003–1010.

TOPS S., OKAMURA B. 2005: Malacosporean parasites (Myxozoa, Malacosporea) of freshwater bryozoans (Bryozoa, Phylactolaemata): a review. *Denisia*, 16, 287–298.

TRUMBLE W., BROWN L., 2002: "Bryozoa". *Shorter Oxford English Dictionary*. Oxford University Press, USA.

VAN DER WAAIJ M., 2007: *Plumatella fruticosa*. [cit. 11.4.2017]. Dostupné z: [http://www.bryozoans.nl/soorten/en/plumatella\\_fruticosa.html](http://www.bryozoans.nl/soorten/en/plumatella_fruticosa.html)

VAN DER WAAIJ M., 2009: *Cristatella mucedo*. [cit. 11.4.2017]. Dostupné z: [http://www.bryozoans.nl/soorten/en/cristatella\\_mucedo.html](http://www.bryozoans.nl/soorten/en/cristatella_mucedo.html)

WAYSS K., 1968: Quantitative Untersuchungen über Wachstum und Regeneration bei *Plumatella repens* (L.). *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere*, 85, 1-50.

WOOD T., 1973: Colony development in species of *Plumatella* and *Fredericaila* (Ectoprocta). In: BOARDMAN R. S., CHEETHAM A. H., OLIVER W. A., eds.: *Development and Function of Animal Colonies Through Time*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania, 395-432.

WOOD T. S., 1996: Aquarium culture of freshwater invertebrates. *The American Biology Teacher*, 58, 46-50.

WOOD T. S., 1991: Bryozoans. In: THORP J. H., COVICH A. P., eds.: Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. *Academic Press*, New York, pp 481–499.

WOOD T. S., 2005: Study methods for freshwater bryozoans. *Denisia*, 16, 103-110.

WOOD T. S., OKAMURA B., December 1998: *Asajirella gelatinosa* in Panama: a bryozoan range extension in the Western Hemisphere. *Hydrobiologia*. Kluwer Academic, 390(1–3), 19–23.

WÖSS E., 1996: Life history variation in freshwater bryozoans. In: GODRON D., SMITH A., GRANT-MACKIE J., eds.: *Bryozoans in Space and Time*. National Institute of Water & Atmospheric Research, Wellington, New Zealand, 391-399.

WÖSS E., 2000: Colonization and development of freshwater bryozoan communities on artificial substrates in the Laxenburg Pond (Lower Austria). In: HERRERA-CUBILLA A., JACKSON J. B. C., eds.: *Proceedings 11<sup>th</sup> International Bryozoology Association Conference*. Smithsonian Tropical Research Institute, Panama, 431-438.

WÖSS E. R., 2002: The reproductive cycle of *Plumatella casmiana* (Phylactolaemata: Plumatellidae). In: WYSE JACKSON P. N., BUTTLER C. J., SPENCER JONES M., eds.: *Bryozoan Studies 2001*. Proceeding 12<sup>th</sup> International Bryozoology Association Balkema, Rotterdam & Brookfield, 347-352.

## 8 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Teplota vody (°C) .....	30
Tabulka 2: Obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě (mg/l) a nasycení vody kyslíkem (%)..	31
Tabulka 3: Hodnoty pH .....	31
Tabulka 4: Výsledky měřených parametrů vody na lokalitě JOHANKA .....	33
Tabulka 5: Výsledky měřených parametrů vody na lokalitě OKO .....	33
Tabulka 6: Letální koncentrace použitých chemikálií pro mechovky a ryby .....	44
Tabulka 7: Náklady na eliminaci mechovek v modelovém systému o objemu 1000 m <sup>3</sup> a potřebný objem přípravků na 1 m <sup>3</sup> .....	46

## 9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <i>Plumatella</i> sp. – stavba těla ( <a href="http://etc.usf.edu/">http://etc.usf.edu/</a> ) .....	12
Obrázek 2: A – floatoblast druhu <i>Plumatella emarginata</i> , B – floatoblast s háčky druhu <i>Cristatella mucedo</i> ( <a href="http://educationally.narod.ru">http://educationally.narod.ru</a> ).....	14
Obrázek 3: <i>Plumatella</i> sp. ( <a href="http://ecosystema.ru/">http://ecosystema.ru/</a> ) .....	17
Obrázek 4: <i>Cristatella mucedo</i> ( <a href="http://etc.usf.edu/">http://etc.usf.edu/</a> ).....	18
Obrázek 5: Rozdělení akvária polystyrenovou přepážkou .....	25
Obrázek 6: Speciálně upravené Petriho misky s plastovou mřížkou.....	26
Obrázek 7: Právník ( <a href="http://google.cz/maps">google.cz/maps</a> ).....	27
Obrázek 8: Situační mapa odběrových lokalit ( <a href="http://google.cz/maps">google.cz/maps</a> ) .....	27
Obrázek 9: Části kolonií druhu <i>Plumatella emarginata</i> v Petriho miskách před zalitím chemikálií.....	29
Graf 1: Působení přípravku Savo Original na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 1. testu	35
Graf 2: Působení přípravku Persteril na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 1. testu .....	36
Graf 3: Působení přípravku formaldehyd na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 1. testu ..	37
Graf 4: Působení přípravku Savo Original na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 2. testu	38
Graf 5: Působení přípravku Persteril na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 2. testu .....	39
Graf 6: Působení přípravku formaldehyd na druh <i>Plumatella emarginata</i> při 2. testu ..	40
Graf 7: Působení přípravku Savo Original na druh <i>Cristatella mucedo</i> .....	41
Graf 8: Působení přípravku Persteril na druh <i>Cristatella mucedo</i> .....	42
Graf 9: Působení přípravku formaldehyd na druh <i>Cristatella mucedo</i> .....	43

## 10 SEZNAM PŘÍLOH

Obrázek 1: Mechovka ( <i>Plumatella emarginata</i> ) z potrubí modelového recirkulačního systému vyplavená při čištění systému (foto: L. Jurek).....	61
Obrázek 2: Mechovka ( <i>Plumatella emarginata</i> ) z potrubí modelového recirkulačního systému (foto: L. Jurek) .....	61
Obrázek 3: Statoblast mechovky druhu <i>Plumatella emarginata</i> (foto: L. Mareš).....	62
Obrázek 4: Klíčící statoblast mechovky druhu <i>Plumatella emarginata</i> (foto: L. Mareš) ..	62
Obrázek 5: Akvária určená k chovu mechovek před nasazením kolonií.....	63
Obrázek 6: Akvária určená k chovu mechovek po nasazení kolonií .....	63
Obrázek 7: Část kolonie mechovky druhu <i>Plumatella emarginata</i> připravená na Petriho misce .....	64
Obrázek 8: Část kolonie mechovky druhu <i>Cristatella mucedo</i> připravená na Petriho misce .....	64



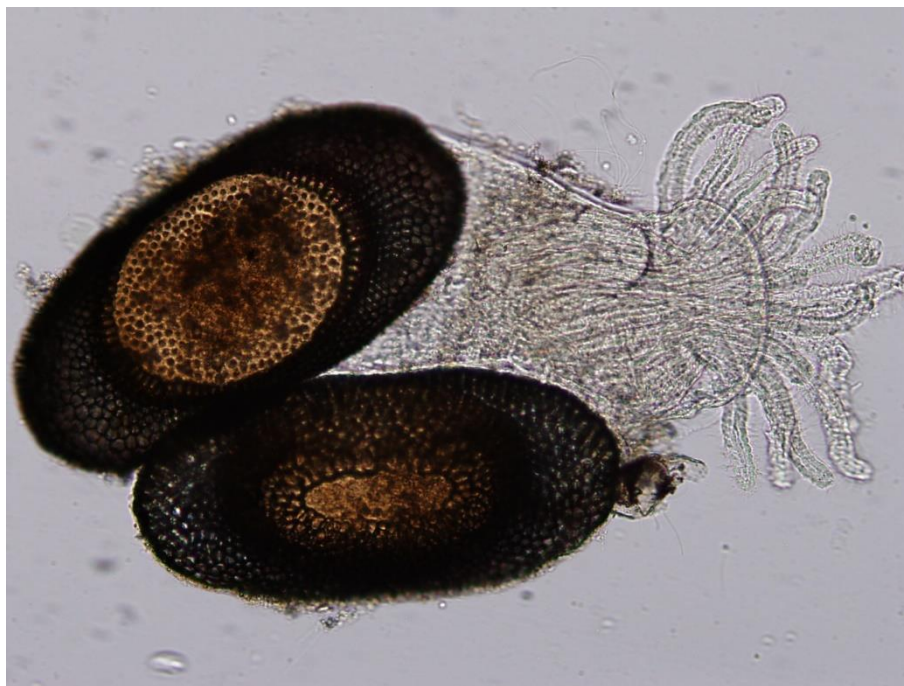
Obrázek 1: Mechovka (*Plumatella emarginata*) z potrubí modelového recirkulačního systému vyplavená při čištění systému (foto: L. Jurek)



Obrázek 2: Mechovka (*Plumatella emarginata*) z potrubí modelového recirkulačního systému (foto: L. Jurek)



Obrázek 3: Statoblast mechovky druhu *Plumatella emarginata* (foto: L. Mareš)



Obrázek 4: Klíčící statoblast mechovky druhu *Plumatella emarginata* (foto: L. Mareš)

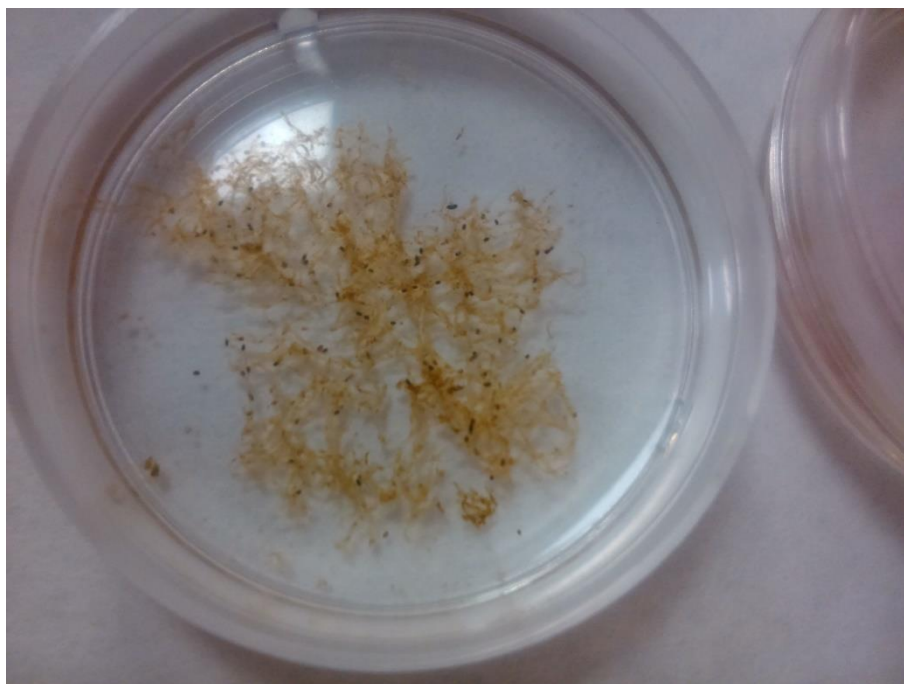




Obrázek 5: Akvária určená k chovu mechovek před nasazením kolonií



Obrázek 6: Akvária určená k chovu mechovek po nasazení kolonií



Obrázek 7: Část kolonie mechovky druhu *Plumatella emarginata* připravená na Petriho misce



Obrázek 8: Část kolonie mechovky druhu *Cristatella mucedo* připravená na Petriho misce