

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Diplomová práce

**Porovnání účinnosti profylaktických a léčebných
koupelí NaCl a kys. peroctové**

Autor: Bc. Jan Janík

Vedoucí diplomové práce: MVDr. Eliška Zusková, PhD.

Konzultant diplomové práce: MSc. Bernard Erasmus

Studijní program a obor: Rybářství a ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci na téma “Porovnání účinnosti profylaktických a léčebných koupelí NaCl a kys. peroctové” vypracoval samostatně pouze na základě níže uvedených pramenů a literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 7. 5. 2022

podpis studenta

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval vedoucí této diplomové práce MVDr. Elišce Zuskové, PhD., za odbornou pomoc, ochotu a čas, který mi poskytla. Také za odborné vedení a věcné připomínky k danému tématu. Dále děkuji RNDr. Aleši Tomčalovi, Ph.D., Ing. Marku Letovi a Ing. Martinu Musilovi za odborné konzultace. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Jan JANÍK
Osobní číslo: V19N001P
Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Rybnářství a ochrana vod
Téma práce: Porovnání účinnosti profylaktických a léčebných koupelí NaCl a kys. peroctové
Zadávací katedra: Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický

Zásady pro vypracování

Dobry zdravotni stav ryb je jedním z limitujících faktorů kvalitního odchovu. Základním předpokladem dobrého zdravotního stavu je dodržování zoohygienických podmínek. Jednotlivé složky životního prostředí ryb působí současně a vzájemně se ovlivňují. Pro organismus ryby i původce onemocnění vytvářejí více či méně vhodné podmínky. Při rozvoji podmínek vhodných pro působení infekčních činitelů je žádoucí mít nastavena taková preventivní opatření, která budou minimalizovat rizika zvýšených ztrát ryb.

Cílem práce bude posoudit vliv 2 zmíněných desinfekčních látek na zdravotní stav ryb. Bude sledován vliv aplikovaných látek na hematologické (RBC, WBC, Ht, Hb, MCV, MCH, MCHC) a biochemické (AST, ALT, LDH, Glu, TG atd.) markery, jakožto ukazatele stavu organismu. Dále bude sledován vliv těchto látek na infekční onemocnění ryb. Metodicky budou provedeny dlouhodobé a krátkodobé koupele ryb z chovného prostředí, kde se předpokládá výskyt patogenních činitelů. Před a po provedených koupelích bude rybám odebrána krev a stanoveny hematologické a biochemické parametry. Rovněž bude monitorován vývoj parazitárního a infekčního stavu ryb. Získaná data budou následně statisticky zpracována.

NaCl má prokázaný účinek v boji proti parazitárním infekcím (protozoózy, monogeneózy) a mykotickým infekcím, částečný efekt byl prokázán i na bakteriální infekce a povrchové zaplísnění poraněných ryb. Používá se ve formě krátkodobých i dlouhodobých koupelí. Nezatěžuje životní prostředí a je možné ji použít u potravinových druhů ryb.

KPO je velmi výhodná zejména z důvodů minimálního zatížení životního prostředí spolu s širokým spektrem účinnosti zahrnující dezinfekční, fungicidní, baktericidní, sporocidní a podle některých autorů i antiparazitární efekt (Stoskopl, 1993; Zusková a kol., 2011). KPO je látka, u které není nutné stanovovat MRL a v odůvodněných případech ji lze využít u potravinových zvířat.

Rozsah pracovní zprávy: 50-70 stran
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

- Eiras J. C., Segner H., Wahli T., Kapoor B. G. (eds.) 2008. Fish Diseases. Science Publishers, Enfield, NH, USA.
Hoole D., Bucke D., Burgess P., Wellby I. (eds.) 2001. Diseases of Carp and other Cyprinid Fishes. Blackwell Science, UK.
Roberts R.J. 2012. Fish Pathology, 4th Edition, Wiley-Blackwell, 590 pp.
Treves-Brown KM. 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 310 pp.
Svobodová Z., Gelnarová J., Justýn J., Krupauer V., Máčková J., Šimanov L., Valentová V., Vykusová B., Wohlgemuth E. 1987. Toxikologie vodních živočichů. Vydavatelství MZVŽ a CSR, Praha, 231s.
Svobodová Z. 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. 4. vyd., Informatorium, Praha, 264 s.

Svobodová Z., Pravda D., Paláčková J. 1986: Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Edice metodik, VÚRH Vodňany 22, 36 s.


Kouřil J., Svobodová Z., Vykusová B., Hamáčková J. 1984: Antiparazitární a protiplišňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice metodik, VÚRH Vodňany 8 s.

Vedoucí diplomové práce: **MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant diplomové práce: **MSc. Bernard Erasmus**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2021**

0.2. 

prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

LS.



prof. Ing. Tomáš Randák, Ph.D.
ředitel

Obsah

1. ÚVOD.....	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1 LÉČEBNÉ A DESINFEKČNÍ PŘÍPRAVKY	10
2.1.1 KYSELINA PEROCTOVÁ (CH_3CO_3H)	11
2.1.2 CHLORID SODNÝ ($NaCl$).....	16
2.2 APLIKACE LÉČIV	17
2.2.1 APLIKACE LÉČIV formou koupelí.....	18
2.3 EKTOPARAZITÉ	19
2.3.1 ICHTYOBODÓZA	19
2.3.2 CHILODONELÓZA	22
2.3.3 ICHTYOFTIRIÓZA.....	24
2.3.4 TRICHODINÓZA.....	26
2.3.5 MONOGENEÓZY.....	27
2.3.6 EKTOKOMENZÁLOVÉ.....	32
2.4 RYBY EXPERIMENTU.....	34
2.5 DIAGNOSTIKA.....	37
2.5.1 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ.....	37
2.5.2 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ.....	38
2.5.3 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ.....	45
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	49
3.1 LABORATORNÍ EXPERIMENT	49
3.1.1 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ.....	52
3.1.2 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ.....	56
3.1.3 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ	57
3.2 PRAKTICKÝ POKUS	58
4. VÝSLEDKY	62
4.1 VÝSLEDKY LABORATORNÍHO EXPERIMENTU.....	62
4.1.1 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ.....	62
4.1.2 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ.....	64
4.1.3 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ.....	66
4.1.4 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI VODY.....	68
4.2 VÝSLEDKY PRAKTICKÝCH POKUSŮ	68
4.2.1 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ	68
5. DISKUZE	74
6. ZÁVĚR	80
7. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	82
8. SEZNAM TABULEK	91

9. SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ	92
10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	94
11. DOPLŇUJÍCÍ DATA.....	95
12. ABSTRAKT	99

1. ÚVOD

Stále častěji se v intenzivních chovech využívají léčebné koupele všech typů. Aplikace desinfekčních látek do vody je zaměřena na útlum bakteriálních, plísňových a parazitárních původců onemocnění, které se manifestují zejména na povrchu těla a na povrchu žaberního aparátu ryb v intenzivních i rybníčních chovech se zvýšenou hustotou obsádky. Včasnou identifikací patogenního činitele, včetně správně aplikovaných preventivně-léčebných prostředků můžeme utlumit, nebo dokonce úplně zamezit vzniku onemocnění a předejít finančním ztrátám a ztrátám na obsádce. Tyto terapeutické zásahy by však měly být provedeny pouze za předpokladu, že onemocnění ohrožuje vitalitu a prosperitu ryb. Proto bereme léčebné postupy jako postupy nouzové, ke kterým se přistupuje až v případě zanedbané prevence (Kolářová a Svobodová, 2009).

Podle zákona O veterinární péči (166/1999 Sb. ve znění pozdějších předpisů) je chovatel povinen pravidelně a důsledně sledovat zdravotní stav ryb a v určitých odůvodněných případech jim poskytnout náležitou veterinární pomoc. V chovech ryb, které jsou určené k přímé konzumaci, nelze aplikovat léčiva, u kterých nebyl stanoven maximální reziduální limit (dále jen MRL). Na základě stanoveného MRL je následně stanovena ochranná lhůta (dále jen OL), po kterou nelze potravinová zvířata (v našem případě ryby) dodat pro přímou konzumaci lidem. Léčivé látky se aplikují obsádce nejčastěji formou koupelí. K frekventovaným látkám pro přípravu koupele patří například formaldehyd, malachitová zeleň, amoniak, praziquantel, levamisol, ale také látky jako je chlorid sodný a kyselina peroctová (Svobodová, 2007).

Cílem této diplomové práce je pomocí experimentů posoudit účinnost profylaktických a léčebných koupelí chloridu sodného (NaCl) a kyseliny peroctové (C₂H₄O₃) na ektoparazity vyskytující se přirozeně ve vodním prostředí. Dílčím cílem je pomocí hematologického a biochemického vyšetření posoudit a vyhodnotit vliv samotných léčebných látek na zdravotní stav ryb. Experimentální část byla provedena formou dvou pokusů – laboratorní pokus s plůdkem kapra obecného (*Cyprinus carpio*) na Fakultě rybářství a ochrany vod ve Vodňanech a praktický pokus s plůdkem a s tržní velikostí kapra na sádkách Rybářství Lnáře v Rožmitále pod Třemšínem.

Kapr obecný je v Čechách bezesporu nejvýznamnější hospodářsky chovanou rybou. Tato práce tedy může přispět a podhalit případné možnosti většího využití výše zmíněných dostupných látek v rybářské praxi na našem území a předejít tak ztrátám, které

způsobují parazitární onemocnění kapra obecného (*Cyprinus carpio*) všech věkových kategorií.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 LÉČEBNÉ A DESINFEKČNÍ PŘÍPRAVKY

Při dodržení kaskády volby léčiv je veterinární lékař povinen zvolit jako léčivo první volby registrovaný přípravek pro ryby na území ČR, popřípadě v některých zemích EU. Na našem území ČR je sortiment veterinárních léčiv pro rybí obsádky stále velmi omezen. Doposud nebyl registrován žádný léčivý přípravek s antiparazitními účinky. To je nejpravděpodobněji zapříčiněno zařazením ryb mezi druhy s menšinovým chovatelským podílem, vyjma ryb lososovitých. Při volbě léčivého přípravku se musí veterinář řídit pravidly uvedenými v zákoně č. 79/1997 Sb., o léčivech a vyhlášce č. 325/2003 Sb. (Kolářová a Nepejchalová, 2007). U použití léčiv, která jsou registrována v jiném státě spadající do EU, však musí mít veterinář udělenou výjimku od SVS (Státní veterinární správy) ČR pro použití a transport. Další a de facto jedinou možností veterináře je použít léčiva systémem „*off label*“ při zachování minimální ochranné lhůty pro ryby odpovídající 500 stupňodnům. Počet stupňodnů neboli denních stupňů, se zjišťuje násobením průměrné denní teploty vody počtem dnů (Kolářová a kol., 2016).

Léčivem druhé volby je registrovaný přípravek pro jiná potravinová zvířata (v ČR). Do léčiva třetí volby spadají přípravky registrované v ČR, které jsou určeny pro nepotravinová zvířata. Následuje léčivo čtvrté volby, kam spadá použití humánního léčiva. Do poslední kategorie, léčiva páté volby, spadají léky předepisovány a připravovány dle rozpisu veterinárního lékaře (Kolářová a Nepejchalová, 2015).

Zákon však umožňuje použít nejružnější přípravky, které nespádají do kategorie léčivých přípravků, ale mají také prokazatelné antiparazitární účinky. Jde především o široké spektrum desinfekčních látek (např. manganistan draselný, kyselina peroctová, chlorid sodný, formaldehyd atd.), které používáme ve formě koupele. Podle nařízení č. 37/2010, EU je nutné vždy ověřit, jak jsou látky klasifikovány z hlediska setrvání reziduí v tkáních ošetřených ryb. Bezpečností jejich aplikace a následnými ekotoxikologickými účinky se dlouhodobě zabývají ve VÚRH Vodňany (Kolářová a kol., 2016).

Podle zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči, je chovatel ryb povinen sledovat zdravotní stav ryb a v nutném případě jim poskytnou veterinární pomoc. Chov ryb se dělí na zájmový a produkční, kam se řadí potravinová zvířata sloužící k výživě lidí. Z toho důvodu k jejich léčbě nelze použít látky u kterých nebyl stanovený výše uvedený maximální reziduální limit – MRL (Hera a kol., 2004). Maximální limity reziduí je

v nařízení Rady (EEC) č. 2377/90 vyjádřena jako maximální koncentrace rezidua léčiva v potravinách živočišného původu, která vniká důsledkem použití veterinárního léčiva, a kterou lze uznat v potravinách za legální a přijatelnou. Dále je to taková koncentrace, která nepředstavuje žádné toxikologické riziko pro zdraví konzumenta. Hodnoty jsou uvedené v mg/kg nebo µg/kg čerstvé tkáně. Toto opatření pro jednotlivé farmakologicky aktivní látky usnadňuje ochranu veřejného zdraví zvířat a lidí. Umožňuje také sjednocení a zjednodušení obchodování s potravinami živočišného původu, ale také s veterinárními léčivy. Postup pro stanovení MRL farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu stanovuje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 (*Bezpečnost potravin A-Z. Internetový portál bezpečnosti potravin* - [online]). MRL také vyjadřuje, jaké množství léčebné látky je možné zkonzumovat u jednotlivých druhů zvířat včetně ryb (*Kolářová a Nepejchalová, 2006*).

Při chovu juvenilních ryb bývají právě parazitární onemocněním jedním z limitujících faktorů odchovu. Kvůli vysoké hustotě obsádky dochází k rychlému šíření onemocnění a následně k vysoké mortalitě ryb. Mladší věkové kategorie jsou mnohem citlivější na léčebné koupele a přijatá antiparazitární léčiva než starší věkové kategorie ryb. Na citlivost má vliv také množství přijaté potravy ryb, kdy hned po nakrmení je citlivost nejvyšší, po částečném strávení potravy citlivost klesá a u hladovějících ryb opět stoupá (*Kouřil a kol., 1984*).

V této diplomové práci jsem se tak zaměřil na využití antiparazitárních léčiv – kyseliny peroctové (KPO) a chloridu sodného (NaCl), které jsou svou bezpečností z hlediska minimálního zatížení životního prostředí a kumulace nežádoucích látek v mase ryb a svou účinností vůči celé řadě parazitů velmi přínosné pro použití v provozních podmínkách. Je však nutné dále shromažďovat informace o působení těchto látek na zdravotní stav ryb, tak aby se tyto látky mohly ještě více uplatňovat v praxi.

2.1.1 KYSELINA PEROCTOVÁ (CH₃CO₃H)

Kyselina peroctová (kyselina peroxyethanová, acidum peracidicum, KPO) je čirá, bezbarvá kapalina s typickým ostrým octovým zápachem. Sumární vzorec kyseliny je CH₃CO₃H. Vzniká reakcí kyseliny octové s peroxidem vodíku (CH₃CO₂H + H₂O₂ → CH₃CO₃H + H₂O). Má využití v zemědělství při čištění odpadních vod, v průmyslu a laboratořích, nemocnicích, ale také v potravinářství a rybářství (*Baldry, 1983; Kitis,*

2004; Pacenti a kol., 2010; Zusková a kol., 2011; Straus a Meinelt, 2018). KPO antiparazitární, dezinfekční, baktericidní, sporocidní a fungicidní účinky (Stoskopf, 1993; Zusková a kol., 2011). Již při nižších koncentracích má u ryb terapeutickou a profylaktickou účinnost. Hodnota pH je u této kyseliny na hodnotě menší než 2 (Zusková a kol., 2011).



Obrázek č.1 Chemická struktura kyseliny peroctové a přípravek Persteril s účinnou látkou KPO, který je dostupný na území ČR

Ani chlór nebo oxid chloričitý nejsou tak účinná oxidační a dezinfekční činidla jako právě kyselina peroctová (Gehr a kol., 2002). Je vysoce reaktivní a žíravá, s mnohem vyšším antimikrobiálním efektem, než má například peroxid vodíku se kterým však účinkuje synergicky (Alasri a kol., 1992). Má silně destruktivní efekt na mikroorganismy. Při porovnání s ostatními používanými činidly má vysokou účinnost už při velmi nízkých koncentracích (Baldry, 1983). Nižší účinnost byla zaznamenána u některých druhů virů a parazitů, které se vyskytují intracelulárně neboli nitrobuněčně např. *Cryptosporidium parvum*. Citlivost mikroorganismů vůči kyselině peroctové můžeme seřadit podle následující stupnice (Liberti a kol., 1999).

BAKTERIE > VIRY > BAKTERIÁLNÍ SPÓRY > PROTOZOÁLNÍ CYSTY.

Kyselina peroctová ničí mikroorganismy oxidací, po které následuje úplný rozpad buněčných membrán. Klíč oxidace spočívá v převedení radikálů – OH skrz membránu, s následkem zničení a smrti daného mikroorganismu. Druhou schopností kyseliny je

denaturace a inaktivace mikrobiálních enzymů, díky které má ovicidní a sporicidní vlastnosti. Nesmírnou předností je poté schopnost inaktivace enzymu katalázy, který neutralizuje volné hydroxylové radikály (Zusková a kol., 2011). KPO nezanechává rezidua v mase ryb, ani ve vodním prostředí a její dopad na životní prostředí je tak minimální (Kitis, 2004; Zusková a kol., 2011). Při dezinfekčním využití může produkovat (i přes to, že má nízkou úroveň genotoxicity) genotoxické vedlejší produkty, které se později vylučují žlučí (Monarca a kol., 2002; Villarini a kol., 2011).

Použití kyseliny peroctové v akvakultuře přináší řadu výhod. V dnešní době částečně nahradila formaldehyd a malachitovou zeleň, která byla hojně využívána po celá desetiletí (Marchand a kol., 2012). V současnosti je použití malachitové zeleně (pro své karcinogenní účinky u potravinových druhů zvířat) zakázáno. Druhé zmíněné činidlo formaldehyd má naopak negativní dopad na samotný vodní recipient, ve kterém dlouhou dobu přetrvává (Pedersen a kol., 2007). Účinnost kyseliny peroctové byla potvrzena v *in vivo* testech (Jussila a kol., 2011).

Mezi nevýhody můžeme zařadit vyšší náročnost aplikace látky do vodního prostředí. Je o poznání komplikovanější, než u chloridu sodného nebo formalínu, který degraduje pomaleji než kyselina peroctová. Nesmírně důležité je stanovit optimální dávkování kyseliny peroctové pro ryby v daném prostředí a sledování reziduí během léčby (Pedersen a kol., 2010).

Panuje také řada nejasností ohledně rozkladu kyseliny peroctové v rozmanitých podmínkách životního prostředí, což komplikuje přesné vyhodnocení účinné koncentrace pro aplikaci. Množství kyseliny nelze měřit v prostředí okamžitě jak v laboratorních podmínkách, tak v terénu. Analýza se provádí bezprostředně po odběru vzorku za pomoci speciálních zařízení a činidel. K dispozici jsou testovací sety, které však mají nižší detekční limit a nízká koncentrace kyseliny peroctové (např.: 1 mg/l) je pro ně těžko detekovatelná (Rach a kol., 1997). Je známo, že léčba kyselinou peroctovou může způsobit tvorbu vedlejších organických produktů a volných radikálů, které však zanechají v prostředí pouze malé a neškodné množství reziduí bez mutagenních a toxických účinků (Monarca a kol., 2002).

Při aplikaci musíme dbát na zvýšenou bezpečnost a ochrannými prostředky chránit zvláště oči a kůži. U prováděné koupele v uzavřených místnostech je nutné větrat. Látka

má nízký terapeutický index. To znamená, že je letální koncentrace u ryb blízká účinné léčebné koncentraci. Velmi malý je také rozdíl v letální koncentraci ryb a parazitů, proto postupujeme při práci obezřetně. Kyselina peroctová aplikovaná v nesprávném množství může být pro exponované ryby smrtelná (*Straus a kol., 2012; Liu a kol., 2017; Soleng a kol., 2019*).

Na území ČR se běžně vyskytuje několik přípravků obsahujících kyselinu peroctovou. Nejběžněji se používá Persteril v balení až do 200 kg, ve dvou koncentracích podle celkového obsahu kyselina peroctové (*Zusková a kol., 2011*).

Rozděluje se tedy do dvou následujících kategorií:

- **Persteril 4 %:** KPO 3-5 %; H₂O₂ 26-28 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1%
- **Persteril 15 %:** KPO 14-17 %; H₂O₂ 20-25 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1%

Dalším přípravkem je Wofasteril obsahující 40% kyseliny peroctové, 15 % H₂O₂ a 25% kyseliny octové (*Pederson a kol., 2009*). Alternativou i s komerčním využitím je například přípravek MinnFinn, který má odlišnou koncentraci kyseliny peroctové (složení: 4,5% kyseliny peroctové, 22 % H₂O₂ a 9% kyseliny octové) (*Straus a Meinelt, 2009*). Nemůžeme opomenout také Peraqua, PeraquaPlus, ParasantTM, nebo Divosan (*Pedersen a kol., 2007*). Tyto přípravky mají obsah kyseliny peroctové v rozmezí 3–40 % a H₂O₂ od 14–35 %. Na trhu existují i přípravky s vyšší koncentrací kyseliny peroctové. Ty však ve srovnání s přípravky s nižší koncentrací příliš neinhibují růst mikroorganismů. KPO má při koncentraci 0,001 % baktericidní, při koncentraci 0,003 % fungicidní a při koncentraci 0,3 % sporocidní účinky (*Kitis, 2004*).

To je hlavní důvod pro využívání přípravků s nižší koncentrací (*Marchand a kol., 2012*).

Uskladnění kyseliny peroctové by mělo probíhat za stále teploty v rozmezí 15-21 °C a ve stabilních podmínkách. Jako neefektivní se jeví skladování v nádobách ze skla. Pokud je přípravek často otevírán, nebo delší dobu nevyužit, doporučuje se kontrola koncentrace KPO v pracovním roztoku a následné měření pomocí reflektometru, nebo

reflectoquantu. Během skladování tak může výrazně klesat jeho účinnost (Zusková a kol., 2011).

Doporučené léčebné dávky KPO se mění v závislosti na způsobu využití. Při použití jako desinfekční prostředek je doporučená dávka 0,5 až 2 ml/l po dobu trvání 30 sekund. KPO se v případě dezinfekce používá v koncentracích 0,5 až 1 %. Použití je možné ve formě postřiku jako je aerosol, včetně využití horkého vzduchu. Pracovní roztoky nejsou toxické (Kolářová a kol., 2016). Možné léčebné dávky KPO pro použití proti parazitům je popsána v tabulce č.1.

Tabulka č.1: Léčebné dávky kyseliny peroctové (KPO) (Kolářová a kol., 2016)

Dávka na 1 L	Dávka na 100 L	Dávka na 1000 L = na 1 m ³	Délka koupele	Účinek proti	Poznámka
0,5 ml.l ⁻¹ KPO	50 ml	500 ml 0,5 L	30 sec	ektoprotozoa	opakovat každý druhý den, celkem 4x
2 ml.l ⁻¹ KPO	200 ml	2 000 ml 2 L	30 sec	monogenea, nematoda, artropoda	opakovat každý druhý den, celkem 4x
2,9 µl. l ⁻¹ Persteril 36%	0,29 ml	2,9 ml		ektoprotozoa, monogenea	2x denně
2,4-4 µl. l ⁻¹ Persteril 36%	0,24-0,4 ml	2,4-4 ml		profylaxe	3x denně až 1x týdně
6,6 µl. l ⁻¹ Persteril 15%	0,66 ml	6,6 ml		ektoprotozoa, monogenea	2x denně
25 µl. l ⁻¹ Persteril 4%	2,5 ml	25 ml		ektoprotozoa, monogenea	2x denně

2.1.2 CHLORID SODNÝ (NaCl)

Chlorid sodný je chemická sloučenina sodíku (Na) a chloru (Cl). Skládá se z 39,34 % sodíku a 60,66 % chloru. Ve volné přírodě se nachází jako pevný nerost halit, nebo rozpuštěný v mořské vodě (Jonáš a kol., 2016).



Obrázek č.2 Vzhled chloridu sodného (Vlastní zdroj)

NaCl se v rybářské praxi používá zejména k antiparazitární léčbě během celého odchovu ryb od raných stádií až po tržní velikosti ryb. Má výborné účinky proti parazitům jako jsou *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina* nebo *Trichodinella*. Menší pak u parazitů rodu *Dactylogyrus*, *Piscicola* a *Gyrodactylus*. V rybářství je oblíbená pro svoje velké spektrum výhod. Je účinná, cenově dobře dostupná a hlavně neškodná jak pro ryby během koupele, tak pro člověka jako hlavního konzumenta. (Kolářová a Svobodová, 2009). Lze ji použít u všech potravinových druhů zvířat bez nutnosti stanovit MRL (Nařízení komise EU 37/2010).

Zásadou pro využití NaCl je nevyužívat při aplikaci pozinkované nádoby. NaCl totiž uvolňuje zinek do roztoku, což může vést k neblahému účinku na zdraví rybí obsádky. Letální koncentrace NaCl pro parazity a ryby není příliš rozdílná. Musíme tak dělat testy snášenlivosti a předejít zbytečnému úhynu. Při teplotě vody pod 5 °C dochází ke značnému snížení účinnosti. Na 1 litr solné lázně určený pro plůdek kapra obecného (*Cyprinus carpio*) je potřeba využít 10 až 30 g NaCl po dobu 15 až 30 minut. Koupele je nutné pro zvýšení účinnosti zopakovat (Kolářová a kol., 2016).

Tabulka č.2: Léčebné dávky chloridu sodného (NaCl) (Kolářová a kol., 2016).

Dávka na 1 L	Dávka na 100 L	Dávka na 1000 L = na 1 m ³	Délka koupele	Druh/kategorie ryby	Poznánka
10 g.l ⁻¹ NaCl	1 000 g 1 kg	10 000 g 10 kg	30 min	raná stádia plůdku	20–25 °C
20 g.l ⁻¹ NaCl	2 000 g 2 kg	20 000 g 20 kg	15 min	Kapr – slabší plůdek lososovité ryby	
30 g.l ⁻¹	3 000 g 3 kg	30 000 g 30 kg	25–30 min	Kapr – silnější plůdek	
1–2 g.l ⁻¹ NaCl	100–200 g 10–20 dkg 0,1–0,2 kg	1000–2000 g 1–2 kg	1–2 dny	u ryb držných v sádkách nebo v manipulačních rybníčcích v podzimním nebo jarním období	osvědčila se proti chilodonelóze

2.2 APLIKACE LÉČIV

Jak už bylo zmíněno výše, je patrné, že léčiva se aplikují do vodního prostředí různými způsoby. Mimo použití koupelí, které jsou popsány v kapitole 2.2.1 (Aplikace léčiv formou koupelí) máme i další možnosti aplikace léčiv jako je například aplikace perorální. Provádí se buď podáváním medikovaných krmiv do nádrže, nebo náročnější metodou – individuálně pomocí sondy zavedené do jícnu ryby. Tyto metody se používají nejčastěji pro léčbu endoparazitóz. Na území ČR však není žádný přípravek ani medikovaný premix s obsahem antiparazitik pro ryby registrován. Výroba tak spočívá na základě povolené výjimky nebo aplikaci léčiva metodou „*off label*“. Tu provádí obsluhující personál, který krmivo připravil, podle podrobných instrukcí získaných od veterinárního lékaře. Nevýhodou této aplikace je nezajištění stejného dávkování mezi rybami v dané obsádce. Ne všechny nemocné ryby také přijímají krmivo. Na rozdíl od kaprovitých druhů ryb je více spolehlivá aplikace u ryb lososovitých. Ty přijímají krmivo ihned po dopadu na hladinu nebo propadávající vodním sloupcem. Před aplikací je nutné spočítat, popřípadě odhadnout celkovou hmotnost obsádky pro správnost denní krmné dávky (Kolářová a kol., 2017).

Další metodou je aplikace injekční. Ta se v běžném provozu při léčbě parazitárních onemocnění téměř nepoužívá. Aplikace se provádí intraperitoneálně do dutiny tělní, nebo intramuskulárně do hřbetní svaloviny. Metoda je to velmi komplikovaná, vzhledem k nezbytné manipulaci s rybou (Kolářová a Nepejchalová, 2014).

K aplikaci léčiv se však přistupuje až v případě, kdy nemoc bezprostředně ohrožuje život nebo užitkový stav rybí obsádky, popřípadě ohrožuje ryby v blízkém období.

Léčebné postupy jsou tak brány spíše jako nouzové opatření, ke kterému se přistupuje až po neúčinných preventivních krocích (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.2.1 APLIKACE LÉČIV formou koupelí

Nejvíce využívaná forma aplikace léčiv v akvakultuře je právě aplikace formou koupelí. Tuto metodu jsem využíval v praktické části diplomové práce k porovnání účinnosti jednotlivých testovaných látek.

Jedná se o aplikaci léčebných látek do vodního prostředí. Léčivo působí na povrch ryby – tedy hlavně na parazity kůže a žaber. Při přípravě některých koupelí je podstatné léčebný přípravek nejprve rozpustit v malém množství vody a až poté aplikovat do samotné nádrže, ve které koupel provádíme. Je také nutné mít k dispozici váhu s přesností vážení na 0,1g, pipetu, injekční stříkačku a odměrný válec na správné nadávkování léčiv. Správná aplikace docílí rovnoměrného rozložení účinné látky mezi všechny ryby v nádrži (Kolářová a Nepejchalová, 2014).

V praxi využíváme 3 základní typy koupelí:

KRÁTKODOBÉ KOUPELE

Trvají v rozmezí 1 až 2 hodin. Provádí se přímo v odchovném zařízení, nebo při transportu ryb. Ve vodě je při provádění vhodné zajistit dostatečné množství kyslíku oxygenací nebo provzdušňováním a měla by být proveditelná rychlá výměna vody v systému při neadekvátní reakci ryb na koupel. Při likvidaci nebo odtoku lázně je nutné respektovat zákonná opatření a předejít tak znečištění prostředí (Kolářová a Svobodová, 2009).

DLOUHODOBÉ KOUPELE

Trvají více hodin až několik dní. Provádí se přímo v chovném prostředí. V tomto případě je velká možnost ztráty účinnosti podávaných látek vlivem světla a metabolických dějů ve vodě (Kolářová a Svobodová, 2009).

PONOŘOVACÍ KOUPELE

Tento typ je v rybníkářství nejčastěji využíváný. Délka koupele trvá maximálně 5 minut. Na základě doporučení po řádném veterinárním vyšetření provádíme koupel ve

vhodných nádobách například při přesazování ryb při výlovu (Lucký, 1986). Ryby jsou v tomto případě jen krátce ponořeny v keseru, nebo saku do předem připravené koupele s poměrně vysokou koncentrací účinných látek (Kolářová a Svobodová, 2009). Je podstatné dodržovat bezpečnostní opatření a doporučení pro jednotlivé přípravky. Při použití koupele v chloridu sodném (NaCl) nesmíme použít pozinkovanou nádobu. Vznikal by zde totiž chlorid zinečnatý (ZnCl₂), který je pro ryby toxický. Například 100 l léčebného roztoku je možné použít pro ošetření přibližně 20 až 30 kg ryb. Léčebný roztok lze použít i několikrát za sebou (např. 5x – 10x) podle míry znečištění a zahlenění. Dbáme však na čerstvost roztoku, který si nikdy nepřipravujeme v předstihu. Po provedení léčebné koupele zlikvidujeme/vypustíme roztok mimo chovné prostředí (Lucký, 1986).

Tento typ koupelí se využívá nejen v rybníkářství, ale také v chovech ryb s recirkulačními systémy. V nich se totiž využívají nitrifikační filtry, které by mohli být po přímé aplikaci léčebného přípravku do nádrží inaktivované. Výjimkou je použití formaldehydu, který nemá na funkčnost filtrů žádný vliv (Noga, 2000).

Tyto tři typy koupelí se používají zejména proti diagnostikovaným ektoparazitům, kteří jsou popsáni níže.

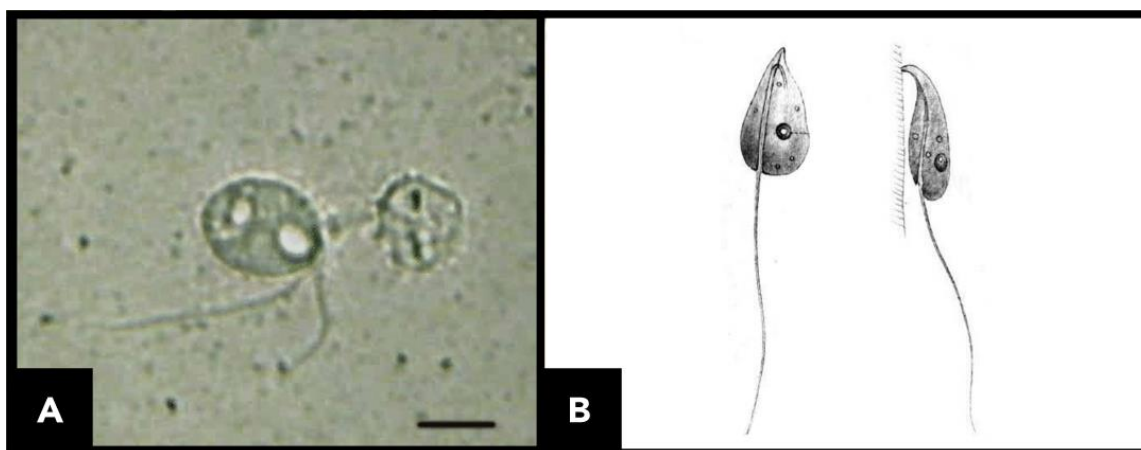
2.3 EKTOPARAZITÉ

V našich podmínkách nalezneme celou řadu ektoparazitů napadajících všechny věkové kategorie ryb. V této kapitole jsou popsány jedny z nejrozšířenějších a nejzávažnějších onemocnění ryb způsobené ektoparazity, které se vyskytují na našem území.

2.3.1 ICHTYOBODÓZA

Ichtyobodóza je jedním z nejrozšířenějších a nejzávažnějších protozoálních onemocnění ryb vyskytujících se na našem území. Původce onemocnění *Ichtyobodo necator* (Henneguy, 1884) napadá veškeré věkové kategorie sladkovodních ryb už od raných stádií – vajíčka. Největší ztráty zaznamenává onemocnění při odchovu lososovitých ryb (především plůdku) a je limitujícím faktorem při odchovu raných vývojových stádií ryb v rybochovných zařízeních s oteplenou vodou. Jedná se především o býložravé druhy ryb, akvarijní ryby, sumce, kapra nebo lína (Hoffman a Meyer, 1974).

Ichtyobodo necator (Henneguy, 1884), patřící do kmene bičíkovců, je jedním z nejmenších ektoparazitů ryb, ale i larev obojživelníků. Tento rozšířený parazit dosahuje velikosti 20 μm . Má vejčitý, oválný až fazolovitý tvar těla s dvěma různě dlouhými bičíky (obr. č.3). V počátečním vývojovém stádiu dělení může mít i čtyři bičíky. Cizopasník má k dispozici zobákovitý výběžek s vyústěním buněčných úst, díky kterým po přilnutí k hostitelské buňce přijímá potravu. Svého hostitele napadá na povrchu žaberního nebo kožního epitelu, do kterého pronikne a saje potravu – buněčný obsah. Potravu přijímá pouze když je pevně uchycen. Po odpoutání od hostitele vytváří kulovité cysty o velikosti 7-10 μm , pro které je typická krátká životnost. Tvoří je hlavně v nepříznivých podmínkách a jsou odolné proti vysušení (Volf a Havelka, 1958).



Obrázek č.3 A) *Ichtyobodo necator* v nativním preparátu B) struktura *Ichtyobodo necator* a způsob přichycení k epitelu hostitele (upraveno podle Isaksen, 2013)

Zdrojem onemocnění jsou napadené ryby vysazené do prostředí ke zdravým jedincům. Další možností je zamoření s přitékající vodou z přítoků, ale i infikované rybolovné / rybochovné zařízení (Noga, 1996).

Ichtyobodóza probíhá v teplotním rozmezí od 2 do 30 °C. Při teplotě kolem 25 °C dochází k intenzivnímu množení až propuknutí masivní infekce. To může způsobit až úhyn raných stádií ryb. K rozmnožení těchto parazitů dochází i při nižší teplotě okolo 15 °C. Jsou však i další faktory, které můžou způsobit masivní infekci ve vodním prostředí. Těmi hlavními je zhoršený zdravotní stav způsobený nedostatečnou výživou, nebo příliš zhuštěná obsádka. K přenosu infekce stačí pouhý vzájemný dotek ryb nebo odpadnutí parazita a následné přichycení na jiný hostitelský organismus. Při úhynu ryb zůstává parazit přichycený na mrtvém těle v ideálních podmínkách i několik dnů. Po odpoutání od hostitele uhynie do několika hodin (Svobodová a kol., 2007).

Ichtyobodóza probíhá akutně až subakutně. Parazit v místě přichycení vysává buněčný obsah. V tomto místě později dochází k zesílení nejsvrchnější vrstvy žaber nebo kůže. Následně dochází k rozpadu a oddělení epitelových buněk. Na poškozené tkáni vznikají plošné eroze. Na žaberním aparátu poškozuje primární i sekundární lamely. To vede ke zmenšení povrchu žaberních lístků a k dýchacím problémům, osmoregulačním poruchám, hypoxii, letargii a končí až hynutím napadených jedinců (*Yunus a Wijaya, 2022*).

Nemoc se projevuje několika klinickými příznaky jako je porucha příjmu potravy, shromažďování se ryb u hladiny, nebo přítoku. Při bližším ohledání jsou na rybách patrné našedlé žábry. Ploutve bývají neprůhledné s šedým lemováním. Ryby mohou hynout až po stovkách kusů za den s příznaky dušení. Mají nekoordinované pohyby, nadměrně vylučují hlen a vyhledávají předměty, o které se otírají. Ryby dále ztrácí své typické zabarvení, mívají oteklé žábry a ploutve, jsou apatické (*Noga, 1996*).

Nejvýznamnějším problémem, který ichtyobodóza způsobuje je patologické poškození kůže a žaber ryb. Plošné kožní eroze mohou totiž způsobit až selhání osmoregulace. U takto napadené rybí obsádky můžeme pozorovat až 5násobně zesílenou epidermální vrstvu. To doprovází úplné vymizení hlenových buněk (*Noga, 1996*).

Diagnostiku začínáme posouzením dané situace a odebráním vzorku ryb. V preparátu z čerstvě uhynulé ryby je možné při mikroskopii stěru z kůže a žaber parazity kladně rozpoznat podle pohybu a tvaru těla (*Svobodová, 2007*).

K léčbě se nejčastěji využívá velká řada antiparazitárních koupelí. Při léčbě raných vývojových stádií kaprovitých ryb a sumce velkého používáme krátkodobé koupele v chloridu sodném, formaldehydu, popřípadě aplikovat malachitovou zeleň nebo CuSO_4 . Úspěšné zamezení infekce také splňuje zvýšení teploty vody nad 32°C . Účinnost koupelí však není zdaleka stoprocentní, protože parazité mohou přežít v záhybech epitelu, kam se účinná látka nedostane, a infekce propuká později (*Svobodová, 2007*).

Jak už bylo zmíněno výše, můžeme použít formalínovou lázeň, která se používá při nálezů druhů rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Silurodiscooides* a při povrchovém zaplísnění na základě doporučení veterinárním lékařem. Připravuje se z 40 % formalinu a 10 l vody v délce

trvání 10 až 15 minut podle odolnosti ryb. Takto vykoupané ryby musí být neprodleně přesazeny do čisté vody. Po 3 dnech je koupele nutné opakovat. Pro ryby chované v nádržích bez stálého přítoku vody jsou účinné dlouhotrvající koupele (2 až 3 dny) v trypaflavinu v koncentraci 1 g na 100 l vody. Účinnost můžeme zesílit zvýšením teploty na 30 až 32 °C po dobu několika hodin až dní. Tato zvyšování účinnosti se doporučuje u ryb snášejících vyšší teplotu – převážně kapr a lín (Svobodová, 2007).

Prevence ichthyobodózy musí být prováděna velmi důsledně. Hlavní součástí opatření je vytvoření ideálních podmínek pro zajištění dobrého zdravotního stavu ryb a jejich kondice. Zdravotní stav obsádek kontrolovat nejlépe před výlovem nebo transportem ryb, popřípadě před vysazením obsádek do nových rybníků/nádrží. V líhních, či na pstruhových farmách kontrolovat zdravotní stav 1x týdně, u speciálních rybochovných zařízeních častěji (např.: 2x týdně). Nedílnou součástí prevence je také zajištění doplňkového krmení, ale i dostatku přirozené potravy vhodného druhového složení a velikosti. Podstatné je hlídat a optimalizovat kvalitu vody s odpovídajícími chemickými a fyzikálními vlastnostmi (Svobodová, 2007).

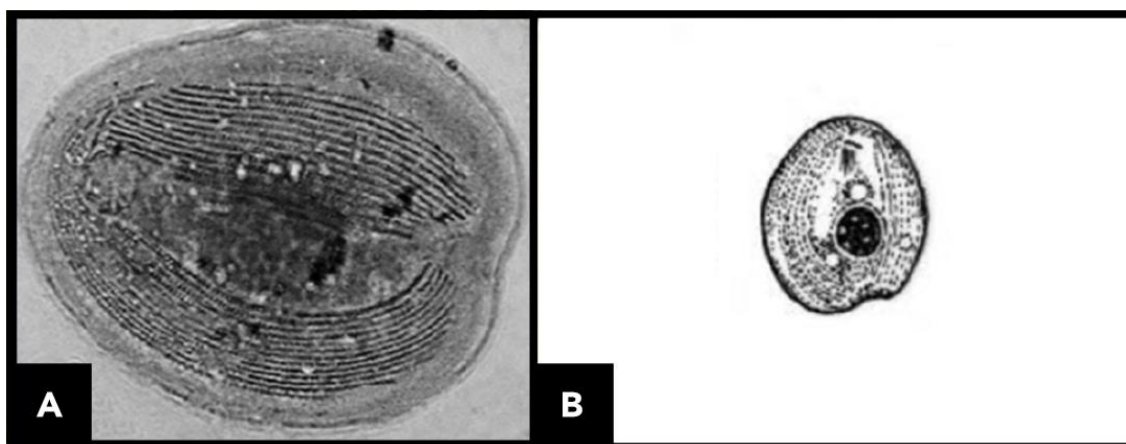
Nesmíme zapomenout na předcházení stresovým stavům u ryb, které způsobuje nešetrná manipulace a vysoká hustota obsádky. Vystresované ryby mohou mít zhoršený výživový stav a tím usnadňují rozšiřování infekce v prostředí. Řešením je také použití vhodného typu zdroje vody. Nejvhodnějším zdrojem pro rybochovná zařízení, líhně a pstruhové farmy je podzemní voda. Většina takových zařízení je však napájena z povrchových vod (řeky, náhony). Naprosto nevyhovujícím zdrojem vody je rybník, kde je pravděpodobnost výskytu infekčních stádií parazitů vysoká. Do rybochovných objektů je potřebné vysazovat ryby ošetřené antiparazitárními koupelemi a ryby řádně vyšetřené (Lom a Dyková, 1992; Noga, 1996; Navrátil a kol., 2000; Eiras a kol., 2008).

2.3.2 CHILODONELÓZA

Toto onemocnění, způsobené nálevníky rodu *Chilodonella* je rozšířeno u všech druhů ryb z našeho území i ryb introdukovaných. Lze jej označit jako jedno z nejrozšířenějších a nejnebezpečnějších onemocnění ryb, zvláště pro plůdek. Při silném napadení může být smrtelné i pro dospělé ryby. Jde o onemocnění, které může napadnout ryby jak ve stojatých, tak v tekoucích vodách (Volf a Havelka, 1958).

Chilodonelózu způsobují dva druhy parazitů z rodu *Chilodonella*, a to *Ch. piscicola* (Kiernik, 1909) a *Ch. hexatricha*. (Kiernik, 1909). Oba druhy mají podobný tvar těla, který je oválný, na břišní části dorsoventrálně zploštělý. Tvar a velikost těla se mění v jednotlivých fázích vývoje a způsobu života. Při hojné výživě je tvar těla více zakulacený a barva těla ztmavne (Li a kol., 2008; Wu, 2009).

Přítomná ústa slouží jednak k filtraci drobných částeczek potravy a také k rozrušování povrchu kůže a žaber, kdy nabodávají a vysávají epitelové buňky. K nakažení ryb dochází v důsledku několika možných příčin a to: vysazením nakažených ryb mezi zdravé, přítokem infikované vody nebo společně s potravou, která pochází ze zamořené oblasti (Ergens a Lom, 1970).



Obrázek č.4 A) *Chilodonella piscicola* B) Základní nákres parazita (upraveno podle Abdullah a kol., 2010)

Chilodonelly, které se některým z těchto způsobů dostanou do styku s rybami se usadí na zábrách nebo kůži ryb, kde se dále množí. Ideální teplotou pro jejich množení je 5–10 °C a vyhovuje jim i nedostatek světla. Pokud jsou ryby oslabené a vyčerpané třeba po proběhlém zimování, dalších výkyvech až nedostatcích kyslíku nebo po dlouhodobém hladovění, pak se onemocnění může rychle a snadno rozšířit chovem. Po propuknutí nemoci se ryby chovají apaticky a sešle. Shromažďují se u přítoku, kde nouzově dýchají, ztrácejí únikový reflex, jsou vyhublé a mohou uhynout. Dalšími příznaky mohou být našedlé žábry, kůže a ploutve. Žábry jsou edematózní s hemoragiemi nebo nekrózou (Navrátil a kol., 2000).

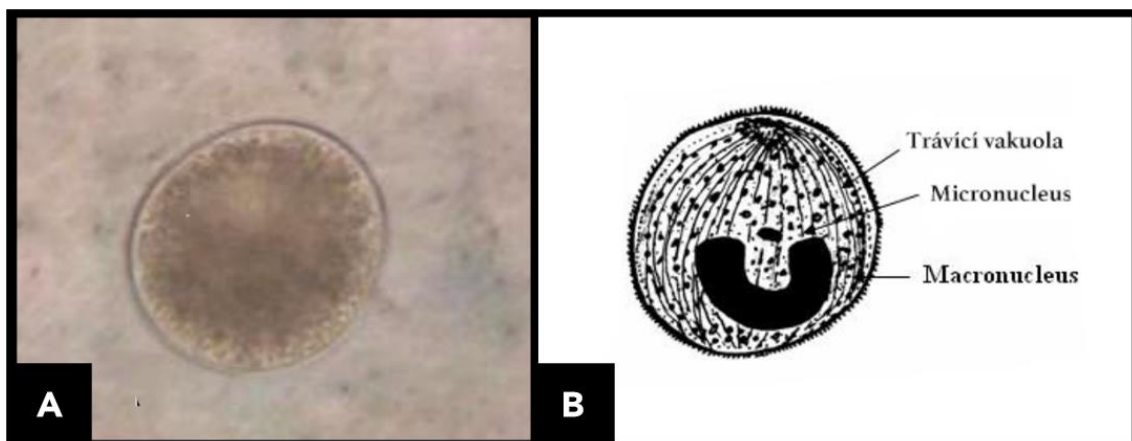
Diagnostiku je možné provést mikroskopií kožního a žaberního seškrabu. Po přistoupení k léčbě je možné nasadit různé antiparazitární koupele, a to krátkodobých i dlouhodobých. Často se používá sůl, formaldehyd, malachitová zeleň, lysol nebo manganistan draselný (Svobodová, 2007).

Preventivním opatřením proti chilodonelóze je zajištění dobré výživy ryb, a to hlavně před komorováním. Před vysazením ryb ke stávajícímu chovu je také dobré ryby držet v krátkodobé karanténě, kdy se mohou projevit příznaky napadení. Dalšími preventivními opatřeními mohou být šterkové filtry, zvýšení průtoku vody atd. Důležité jsou i preventivní zdravotní koupele (Noga, 1996; Svobodová a kol., 2007).

2.3.3 ICHTYOFTIRIÓZA

Dalším závažným onemocněním, které bývá příčinou hromadných úhynů ryb v chovech, je ichthyofthirioza. Toto onemocnění je způsobeno kožovcem druhu *Ichthyophthirius multifiliis*. Zvláště nebezpečné je v komorách a sádkách, kde je velký počet ryb v malém množství vody (Navrátil a kol., 2000).

Kožovec cizopasí mezi pokožkou a škárrou, na ploutvích nebo v žaberním epitelu. Cizopasně stádium je trofont, který má podkovovité jádro a kulovité tělo. Trofont se živí buněčnou drtí a svým rotačním pohybem v pokožce může způsobovat poškození tkání až nekrotické změny. Po dosažení určité velikosti se trofont uvolní a po usazení na substrátu se zapouzdří. Z tohoto útvaru se posléze uvolní tomont, který se rozpadne na až 2000 tomitů. Tato stadia se po uvolnění do vody dále mění na theronty, kteří se mohou volně pohybovat ve vodě a hledají hostitele. Pokud hostitele nenajdou do 2–3 dnů, tak hynou a v případě že vhodného hostitele najdou, mění se na trofonty a cyklus se znovu opakuje. Může trvat od 8 do 21 dní v závislosti na teplotě vody. Parazit se může rozmnožovat v rozmezí teplot 3–28 °C (Hershberger, 2014).



Obrázek č.5 A – *Ichthyophthirius multifiliis* B – nákres a základní popis struktury původce onemocnění (upraveno podle Abdullah a kol., 2010; Kayis a kol., 2015)

K přenosu parazitů z ryby na rybu mnohdy stačí pouze tělesný kontakt, a to v případě přeplněných sádek či komor, kdy ryby nemají dostatečný prostor. Ideální teplotou pro šíření a propuknutí nemoci je 15–25 °C, přičemž v teplejší vodě se celý cyklus značně urychluje. Zatímco v teplotě kolem 10 °C trvá celý cyklus 28–35 dní, tak ve vodě kolem 25 °C se bude rychlost cyklu pohybovat v řádu hodin. Důležité je také rychlost proudění. V rychle proudící vodě se nemůže parazit zdárně vyvíjet (*Svobodová a kol., 2007*).

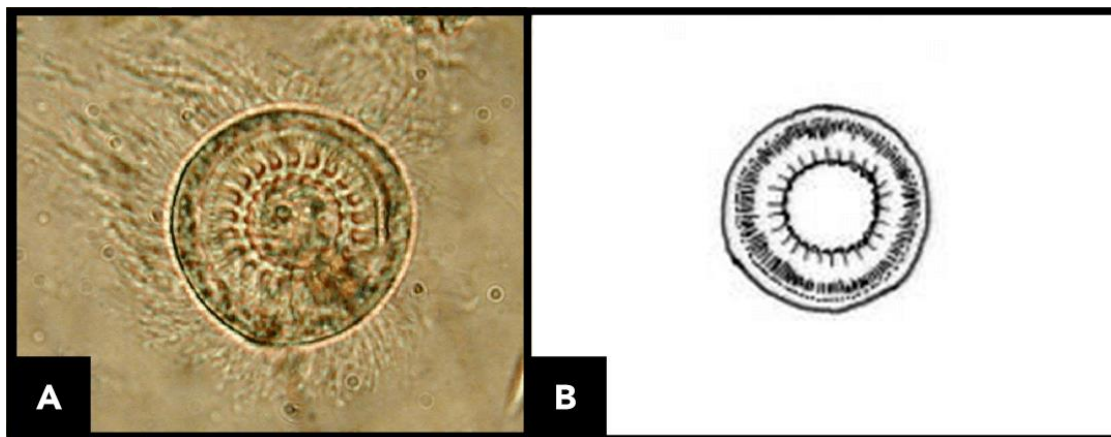
Pokud dojde k nakažení ryb, celé onemocnění má subakutní průběh. Kožovci poškozují tkáně a na žábřácích způsobují hyperplazii. Ryby se zdají přešlé v důsledku narušení homeostázi a dušení. Ryby se dále otírají o předměty, ztrácejí reflexy a jsou neklidné. Trpí nechutenstvím, malátností, shromažďují se u přítoku, zaplísňují a mají nekoordinované pohyby. Dalšími příznaky patologického charakteru jsou léze na kůži, kožní eroze, nekrózy a bílé tečky na kůži a žábřácích. Dochází také k napadení oční rohovky a jejímu rozpadu, nebo k zánětu na žábřácích hostitele a snížení imunity ryb (*Navrátil a kol., 2000; Syahputra a kol., 2019; Mathiessen a kol., 2021*).

Diagnostiku lze provést pomocí mikroskopie kůže a žaber. U plůdku se diagnostika provádí mikroskopii části ocasní ploutve. Terapie je obtížná, kvůli zanoření kožovce v pokožce, která ho chrání před antiparazitárními koupelemi. Proto se často využívá zvýšení teploty vody na 31–32 °C po dobu tří dnů v kombinaci s koupelemi, které mají účinkovat na stádium trofonta, čímž se předejde tvorbě cyst a dalšímu šíření parazitů. U akvarijských druhů ryb lze použít dlouhodobé nebo krátkodobé koupele v malachitové zeleni. Další možností je například koupel ve formaldehydu po dobu 2 hodin. Dále mohou být použity koupele v akriřavinu (3–20 dní), Neguvonu, CaO, CuSO₄, nebo Hg(NO₃)₂. Pro tlumení je možno použít léčiva v krmivu (dimetridazol, metronidazol apod.) (*Navrátil a kol., 2000*).

Prevencí je pravidelná prohlídka se zvláštní pozorností věnovanou ploutvím, kůži a žábřácům kvůli zjištění přítomnosti parazitů. Zabránění zamoření je možné vysazováním zdravých ryb, dodržováním karantény, nebo získání kvalitního přítoku vody bez přítomnosti parazitů. Použitelná a vhodná je rovněž šterkopísková filtrace na přítoku. Po propuknutí nemoci a je nutné vypustit vodu a vysušit dno. To je nutné dezinfikovat chlorovým i páleným vápnem. Stejně tak je nutné ošetřit lovné zařízení a nářadí, které přišlo do styku s infikovanou vodou (*Svobodová a kol., 2007*).

2.3.4 TRICHODINÓZA

Původci tohoto nejčastěji se vyskytujícího parazita žaber a kůže jsou zástupci rodů *Trichodinella*, *Trichodina* a *Tripertiella*. Typický kloboukovitý tvar těla doplňuje přichytný disk. Rod *Trichodina* obsahuje zvláštní druh přichytného disku, který tvoří tři části (kuželovité části s ozubením, dlouhé rovné výběžky a ploché půlměsíčkové výběžky). Tito parazité efektivně využívají svého hostitele, který je svým pohybem přivádí k potravě. Kromě ryb parazitují na povrchu těla larev obojživelníků nebo bezobratlých. Potravu čerpají z okolní vody v podobě bakterií, organických částic, a drtí z odumřelých buněk hostitele – poškozenými částčkami těla. Bez svého hostitele žijí tito parazité pouze několik dní až hodin (Noga, 1996).



Obrázek č.6 A) *Trichodina* sp., B) náčrt struktury původce onemocnění (upraveno podle Tang, 2013; Molnár a kol., 2019)

Zdrojem onemocnění je přímý styk zdravých ryb s nemocnými jedinci, popřípadě z přitékající vody do nádrže. U ryb v dobré zdravotní kondici se vyskytují jen v nepatrném množství. Nejčastěji napadají oslabené ryby nízkých věkových kategorií nebo čerstvě vykulený plůdek. V těchto případech se rychle množí a přichytáváním za stálého pohybu poškozují povrch těla. To může vést až k úhynu. Klinické příznaky se projevují pouze v masivních infekcích, kdy ryby vyhledávají prokysličenou vodu u přítoku nebo hladiny. Otírají se o předměty na dně, těžce dýchají a hubnou. Mají výrazně našedlé zákalry kůže, ploutví a žaber. Mortalita ryb se zvyšuje se sekundární infekcí. Se špatnou kondicí může dojít až k mortalitě obsádky okolo 1 % za pouhý týden. U plůdku mortalita dosahuje vyšších čísel. (Lom a Dyková, 1992; Noga, 1996; Navrátil a kol., 2000).

Diagnostiku provádíme po prošetření situace mikroskopii stěru z žaberního aparátu a kůže. K léčbě se používají antiparazitární koupele, které však nemusí mít vždy 100% účinnost. Při krátkodobých a dlouhodobých koupelích využíváme hlavně formaldehyd a chlorid sodný. U kapra obecného a amura bílého lze při léčbě využít i CaO, nebo Chloramin – B (Hoffman a Meyer, 1974; Svobodová, 2007). Dále lze využít teflubenzuron (Ikefuti a kol., 2015), kyselinu octovou (Meira-Filho a kol., 2017), toltrazuril (Carraschi a kol., 2017), trichlorfon, kyselinu peroctovou (Abu-Elala a kol., 2021), síran měďnatý (Tavares-Dias, 2021), manganistan draselný nebo peroxid vodíku (Aly a kol., 2020). Navzdory slibným výsledkům je nezbytné dále studovat tyto nové terapeutické metody, protože parazité se mohou stát tolerantními vůči často používaným léčivům. To následně snižuje jejich účinnost (Meira-Filho a kol., 2017).

2.3.5 MONOGENEÓZY

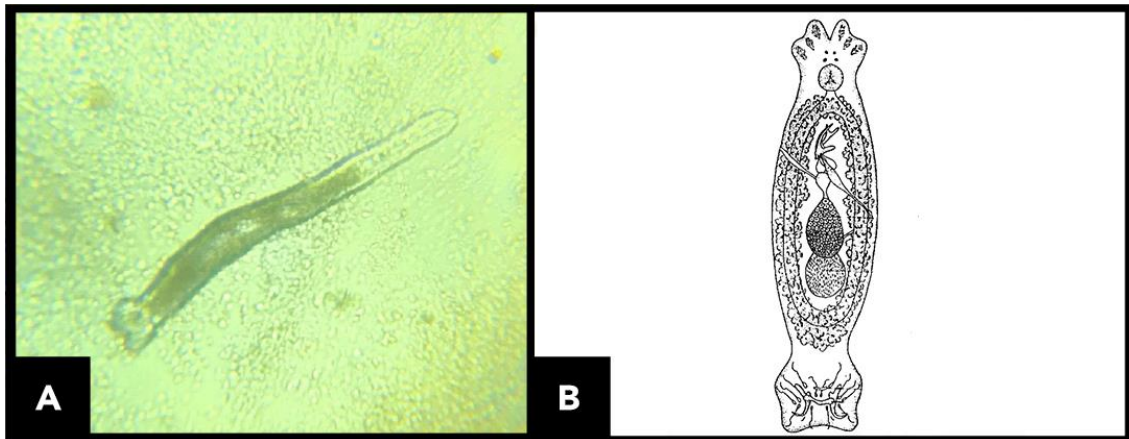
Monogenea (žábrohlisti) patří z hlediska systematického rozřazení mezi Helmitózy. Jsou jedni z nejmenších cizopasných červů o velikosti od 0,2-0,5mm až do několika milimetrů. Žábrohlisti mají přímý vývojový cyklus. Živorodá *monogenea* mají embryonální i postembryonální vývoj uvnitř těla mateřského jedince. Vajíčka v tomto vývoji prochází nerovnoměrným rýhováním a embolickou gastrulací. V první fázi rýhování vzniká jedinečný blastomer, který v dalších fázích přispívá ke vzniku dalšího jedince. U vejcorodých *monogeneí* probíhá embryonální a postembryonální vývoj mimo tělo mateřského jedince (Noga, 1996).

Převážná část *monogeneí* má bilaterálně symetrické, dorzoventrálně zploštělé tělo, podlouhlého tvaru. Tělo, které dovršilo pohlavní dospělost je kryto hladkou a tenkou kutikulou, tvořenou dvěma vrstvami. Pro přichycení k hostiteli využívají haptor neboli přichytný disk obsahující velké spektrum chitinových (2 velké centrální neboli střední háčky + 12 až 16 okrajových háčků) a svalových útvarů. Tyto útvary jsou jedním z hlavních rozpoznávacích znaků jednotlivých druhů (Hoole a kol., 2001).

Vylíhlé larvy opouští po vykulení vaječné obaly a mohou se volně pohybovat přímočaře ve vodním prostředí. V tomto prostředí prodělávají všechny fáze postembryonálního vývoje. Jelikož jsou háčky uloženy pod tělním pokryvem uvnitř přichytného disku, nemůže se larva do další životní fáze přichytit k žádnému hostiteli. Při ztrátě fototropismu a proříznutí háčků v další fázi vývoje se začínají *Monogenea* chovat jako paraziti. Intenzivně přijímají potravu a vyvíjí se v dospělého červa. (Noga, 2010).

Parazitující *monogenea* způsobují mechanické poškození povrchu kůže, žeberního aparátu ale i ploutví. To může způsobit sekundární bakteriální a plísňové infekce. V místě přichycení dochází ke změnám v podobě nekrózy tkáně, bujení pojivové tkáně, nebo slepování žeberních lístků z důvodu nedostatečné produkce hlenu. To vše přispívá ke zmenšení povrchu žeber a k následným dýchacím problémům (Hoole a kol., 2001).

2.3.5.1 DACTYLOGYRUS



Obrázek č.7 A) *Dactylogyrus* sp. (Diesing, 1850) odhalen při mikroskopování při stěru z žaberního aparátu kapra obecného. B) nákras struktury původce onemocnění (upraveno podle Burton, 1994)

Původcem onemocnění jsou v první řadě zástupci z čeledi *Dactylogyridae*. Produkují velké množství lepivého sekretu, pomocí kožních žlázových buněk s vývody ústíciemi na předních a zadních částech těla. Trávicí soustava se skládá z ústního otvoru, hltanu, předhltanu, jícnu, a střeva. Mají výborně vyvinutou jednoduchou nervovou soustavu, jednoduché oči a smyslová zakončení nervových vláken. V části těla, kde se nachází hltan jsou vyvinutá dvě ganglia, které spojují nervovými vlákny všechny části těla pomocí nervových provazců. Veškerí zástupci monogenií jsou hermafrodité. Do společného otvoru ústí dva vaginální otvory, ale i samčí pohlavní orgán a děloha. Charakteristickým znakem jsou čtyři pigmentované oční skvrny v přední části těla. Tělo dále obsahuje přichytný disk s okrajovými a středními háčky (14 okrajových, 2 páry středních) a 1 až dvěma spojovacími destičkami. U zástupců tohoto rodu je typický postembryonální vývoj (Woo, 1995).

Jedním ze zástupců čeledi *Dactylogyridae* je *Dactylogyrus vastator*. Tento druh je nebezpečný převážně pro plůdek kapra do velikosti 7 cm. Je rozšířený ve všech typech

vod, kde způsobuje vysoké ztráty. Napadá žaberní aparát, nejčastěji na periferních koncích žaberních lístků. Způsobuje rozsáhle změny tkáně, která vede až k nekróze a odpadávání jednotlivých žaberních lístků. To může vést až k úhynu ryb. Teplotní optimum tohoto druhu je 22–24 °C, při kterém dochází k největšímu rozvoji (Svobodová, 2007).

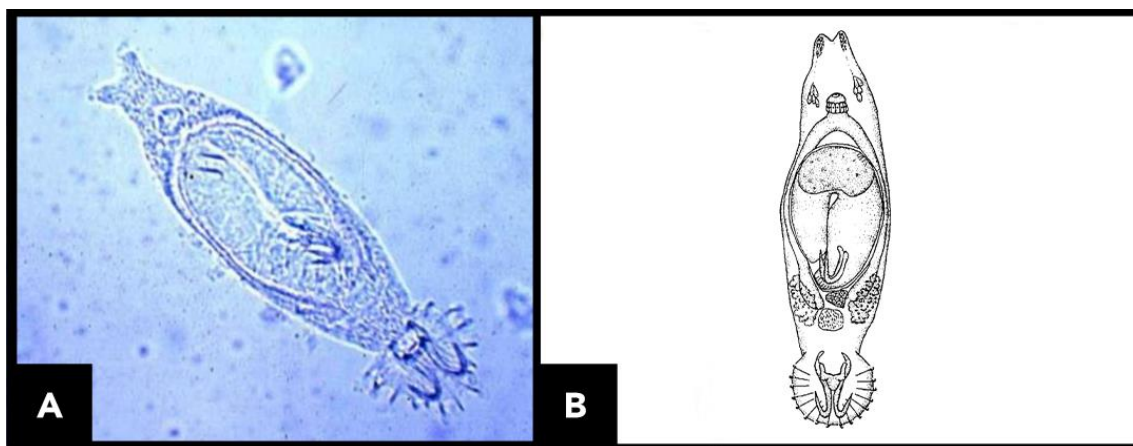
S poklesem teploty, klesá také intenzita infekce. U ryb se vyskytuje celoročně. V zimním období převážně u slabších jedinců o velikosti 6 cm. Do vodního prostředí a žaberního aparátu klade vajíčka od časného jara do podzimu. Vajíčka dosahují velikosti 90 x 20 µm tmavé barvy. V ideálních podmínkách pro rozvoj je *Dactylogyrus* schopný rozmnožovat se i v zimním období. Vajíčka zůstávají zafixována v rybničním dnu až do jara, kdy vzniká při zvýšené teplotě nová generace žábrolístů. Z vajíček se vylíhnou obrvené larvy. Ty musí do 10 hodin nalézt svého hostitele, jinak vyčerpají svoje energetické zásoby a umírají (Ergens a Lom, 1970, Woo, 1995).

Druhým nejčastějším druhem z této čeledi je *Dactylogyrus extensus*. Vyskytuje se převážně u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v povodí řek Ondry, Labe a Dunaje. Napadá všechny věkové skupiny ryb, nejčastěji však násadu nebo plůdek. U plůdku kapra se vyskytuje už ve třetím týdnu po vykulení a způsobuje početné úhyny na obsádkách i v letním období. Tělo parazita je tvořené z kopulačního orgánu, jehož součástí je několik částí (základní, tyčinkovitá část a kopulační trubička). Vyskytuje se v průběhu celého roku. Nejčastěji v jarních a podzimních měsících kdy napadá žaberní aparát ryb a je přichycen na žaberních listech. Optimální teplota je v rozmezí 16-17 °C. Poškození žaberního aparátu může přecházet až k destrukci tkání a nekróze (Svobodová, 2007).

Specifickým druhem této čeledi je druh *Dactylogyrus macracanthus* parazitující na žábrách lína obecného (*Tinca tinca*). Na území ČR byl výskyt zaznamenán pouze v povodí řeky Labe a Dunaje. Při vypuknutí infekce může poškozovat žaberní lístky a deformovat žaberní aparát. Dalším druhem parazitujícím na línovi je *Dactylogyrus tincae*. Na našem území je druh rozšířen v povodí Dunaje a Labe. V rybnících napadá běžně jeden kus lína až 60 jedinců tohoto parazita (Ergens a Lom, 1970; Svobodová, 2007).

2.3.5.2 GYRODACTYLUS

Zástupci této čeledi jsou živorodí. Mají zvláštní žlázu, která nahrazuje vaječník, který jim chybí. Pohlavně dospělí jedinci mají vyvinutý přichytný aparát složený z okrajových a středních háčků včetně spojovacích destiček. Vyskytují se převážně na žaberním aparátu a kůži nebo ploutvích, kde mechanicky poškozují hostitelskou tkáň. To vede až k případné anémii a nekróze žaber. Napadá veškeré věkové kategorie ryb s nejčastějším výskytem u plůdku a násady (*Volf a Havelka, 1958; Svobodová, 2007*).



Obrázek č.8 A) *Gyrodactylus* sp. B)) nákres struktury původce onemocnění (*upraveno podle Burтона, 1994*)

První ze zástupců čeledi *Gyrodactylus* je *Gyrodactylus cyprini*, který se vzácně vyskytuje v povodí Labe a Dunaje, kde napadá nejčastěji kapra obecného. Dalším zástupcem je *Gyrodactylus katharineri*, který byl dlouho zaměňován a spojován s jinými druhy. Na našem území se vyskytuje ve všech typech vod. Právě s následujícím druhem *Gyrodactylus elegans*, byl nejčastěji zaměňován *G. katharineri*. (*Ergens a Lom, 1970*). Tento druh velký 0,5mm převážně parazituje na kůži a ploutvích v jarních a podzimních měsících. Mechanické poškození může vést až k zaplísnění. Naopak v letních měsících, kdy voda dosahuje největší teploty se vyskytuje druh *Gyrodactylus schulman*. Napadá především kapří plůdek v tekoucích vodách. Posledním druhem, který se přirozeně vyskytuje na našem území je *Gyrodactylus tincae*. V rybničních soustavách napadá žaberní aparát, ploutve a kůži lína obecného (*Svobodová, 2007*).

Hlavním zdrojem onemocnění jsou infikované ryby v přehuštěných obsádkách, popřípadě infikovaná voda s vajíčky nebo larvami. Rozmnožování některých druhů může podpořit i velké organické zatížení vody (*Navrátil a kol., 2000*).

Po napadení uchycení jedinci mechanicky dráždí tkáň a vyvolávají nekrotické procesy. Tkáň je krvácivá a zduřelá s poškozenou strukturou. To může v některých masivních případech končit až úhynem ryb. V těchto silných infekcích se ryby shromažďují u přítoku a pod hladinou, kde nouzově dýchají. Dále nepřijímají potravu, jsou více zahleněné a otírají se o vodní rostliny nebo předměty ve vodní nádrži. Při diagnostice je důležité nejprve posoudit situaci a odebrat vzorek z napadených ryb pro mikroskopické vyšetření žaber a kůže, tak abychom vyřadili z možných nákaz jiné choroby projevující se dušením, poškozeným žaberním aparátem, popřípadě kůže (Volf a Havelka, 1958; Noga, 1996; Navrátil a kol., 2000).

Po správné diagnostice můžeme využít na tyto parazity několik druhů koupelí. Nezbytné pro docílení správné účinnosti je léčebné koupele opakovat. V minulosti se používal trichlorofon (organofosforečná sloučenina) v přípravku Soldep, kterému byla ukončena registrace. U krátkodobých koupelí se využívá převážně formaldehyd a chlorid sodný. Ty ale nedosahují potřebné účinnosti. Riskantní variantou ve vyšších teplotách a za vyššího pH je využití ponořovací koupele v trypaflavinu nebo amoniaku. Doporučovány jsou koupele v levamisolu nebo praziquantelu. *Monoganea* napadající žaberní aparát jsou vůči léčivům více rezistentní, než zástupci napadající kůži (Navrátil a kol., 2000; Svobodová, 2007).

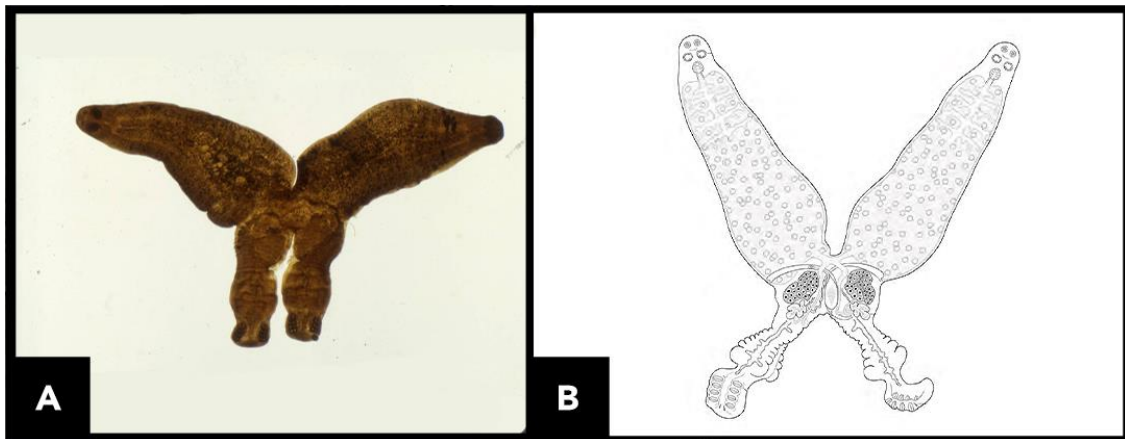
Pravidelnou kontrolou zdravotního stavu můžeme předejít hustému napadení (u plůdku alespoň jednou za týden. Dále můžeme předejít infikaci využíváním umělého výtěru ryb, kdy nedojde ke kontaktu generačních ryb s plůdkem. Plůdek přikrmovat kvalitními krmivem, tak aby co nejrychleji dosáhl velikosti 6 a více centimetrů. Nad touto hranicí se plůdek stává odolnější (Svobodová, 2007).

Závěrem nutno zmínit, že zástupci rodu *Dactylogyrus* jsou díky vyšší schopnosti poškodit tělo ryb nebezpečnější než rod *Gyrodactylus* (Ergens a Lom, 1970; Svobodová, 2007).

2.3.5.3 EUDIPLOZOON

Eudiplozoon, původně označován jako *Diplozoon nipponicum* se přirozeně vyskytuje po celé Evropě a na dálném východu. V našich podmínkách ho celoročně nalezneme hlavně na žaberním aparátu kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a karase obecného (*Carassius carassius*). Problém představuje zejména pro intenzivní chovy ryb

(Valigurová a kol., 2011). V letních měsících se intenzivněji rozmnožuje z důvodu zvýšení teploty vody. Vývojový cyklus začíná vylíhnutím invazivních onkomiracidii z vajíček, které vyhledávají hostitele a usedávají na jejich ploutve a tělo. Z těla se postupně přemísťují na žaberní aparát, kde se vyvíjejí v diporpu (juvenilní jedinec, který se ještě nespojil s jiným jedincem). Diporpy v této době již přijímají potravu a putují na konce žaberních lupínek, kde se párují a trvale srůstají. Dospělí jedinci se následně živí specificky erytrocyty. Při propuknutí infekce může u obsádky docházet k hypochromní anémii (Noga, 2010).



Obrázek č.9 A) *Eudiplozoon nipponicum* B) náčrt struktury (upraveno podle Palíková a kol., 2019)

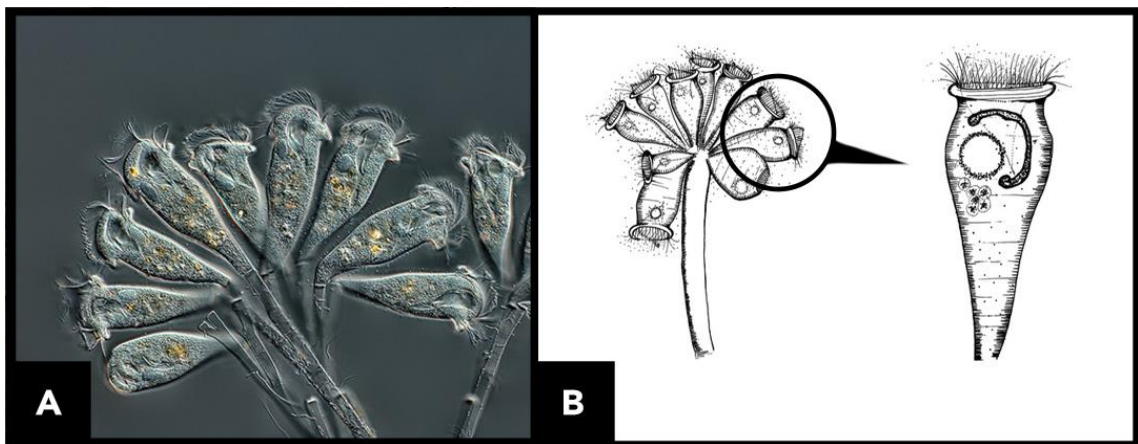
2.3.6 EKTOKOMENZÁLOVÉ

Ve vodě se běžně vyskytuje mnoho druhů organismů, které jsou za standardních okolností pro ryby neškodné a obsádku využívají pouze jako hýbající se substrát, na který se přichycují a dostávají se tak snáze k potravě. Napadené ryby nijak neohrožují pouze do té doby, kdy není obsádka oslabená například nemocí, špatnou výživou, nebo kvalitou vody. V opačném případě může dojít k přemnožení těchto organismů a sekundárnímu zhoršení zdravotního stavu (Noga, 1996).

2.3.6.1 EPISTYLIS

Je jeden z druhů nálevníků, který napadá žaberní aparát a kůži velké části sladkovodních ryb jak v Evropě, tak Severní Americe nebo Asii. Na území ČR ho nejčastěji nalezneme na kůži kapra obecného (*Cyprinus carpio*), ale i na dalších druzích kaprovitých a lososovitých ryb. Má kuželovitý, až zvonkovitý tvar těla dosahující velikosti 40–80 x 20–30 μm , jehož součástí je malé jádérko a podkovovité jádro. K napadenému jedinci se přichytává na povrch kůže za pomoci velmi tvarově rozmanité

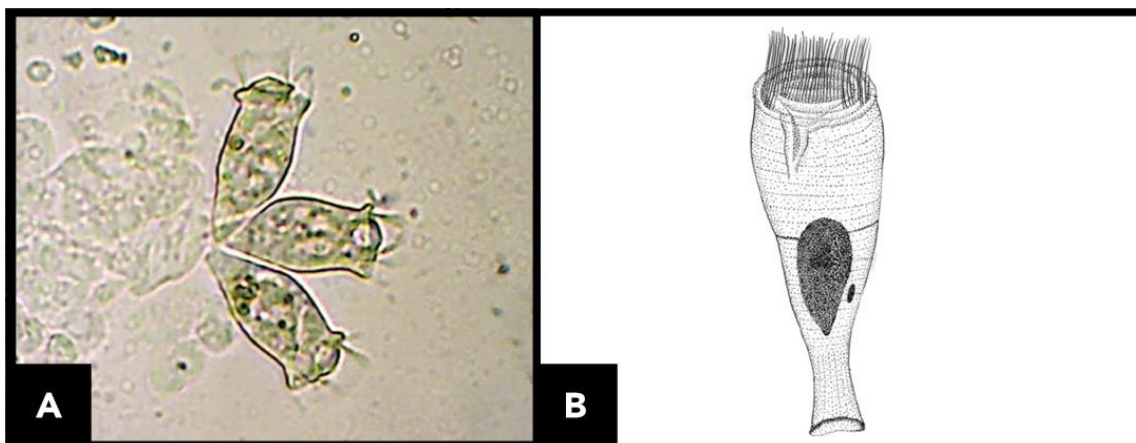
stopky. Při masivní infekci může zapříčinit proliferaci a následně způsobit destrukci epidermis. Takové poškození tkáně může vést k sekundární infekci bakteriemi apod. (Noga, 2010). Při silném přemnožení může rybí obsádka vykazovat neklid, nebo příznaky dušení. Podmiňujícími faktory pro napadení může být oslabení jedinců stresem při jiném onemocnění, popřípadě špatná kvalita vody atd. (Noga, 1996; Svobodová, 2007).



Obrázek č.10 A) *Epistylis* sp. B) náčrt struktury původce onemocnění (upraveno podle Kühner a kol., 2015)

2.3.6.1 APIOSOMA

Druh parazita objevující se na žaberním aparátu a kůži většiny druhů sladkovodních ryb na území Evropy ale i Jižní Afriky a Severní Ameriky. V našich podmínkách se vyskytuje nejčastěji na kůži a ploutvích kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a karase obecného (*Carassius* sp.). Zástupce však můžeme najít také u dalších druhů jak kaprovitých, tak lososovitých ryb. Apiosoma se vyznačuje kuželovitým, až baculatým podlouhlým tělem, které dosahuje rozměrů 62–110 x 24–40 μm . Parazituje za pomoci fixace přichytnou ploškou (Noga, 2010). Závažnější onemocnění může vzniknout pouze u velmi oslabených jedinců. Při velké infekci však mohou dráždit kůži, což vede k vyššímu zahlenění a mohou zhoršovat primární onemocnění. Zdrojem infekce je voda s volnými stádii, nebo ryby přenášející parazity na svém povrchu. Nákaza vzniká jednoduše přichycením na povrch kůže, popřípadě žaber (Hoffman a Meyer, 1974).



Obrázek č.11 A) *Apiosoma pisciola* B) nákras struktury původce onemocnění (*upraveno podle Li a kol., 2008*)

2.4 RYBY EXPERIMENTU

Kapr obecný (*Cyprinus Carpio*) se řadí do třídy ryby (*Osteichthyes*), nadřádu kostnatí (*Teleostei*), řádu máloostní (*Cyprinyformes*) rodu *Ctenopharyngodon*, a čeledi *Cypriniae*, která je v ichtyofauně našich vod nejrozšířenější. Například v Austrálii je však řazen mezi nebezpečné invazivní druhy ryb (*Čítek a kol. 1998*).

Třída:

Osteichthyes – Ryby

Nadřád: Teleostei – Kostnatí

Řád: Cypriniformes – Máloostní

Podřád: Cyprinoidei – Kaprovci

Čeleď: Cyprinidae – Kaprovití

Rod: *Cyprinus* – Kapr

Druh: *Cyprinus Carpio* – Kapr obecný (*Linnaeus, 1758*)

Tento druh je svou dokonalou schopností přizpůsobovat se různým podmínkám připraven prosperovat ve velké části tekoucích a stojatých vod (*Durantel, 1999*). Je to typický zástupce cejnového pásma mimo jiné s velkou oblibou mělčích, prosluněných úseků vodních toků (*Hanel a Lusk, 2005*). Řadí se do eurytermních druhů ryb, které se přizpůsobují široké škále teplot vody. Tou optimální je 18–24 °C s obsahem rozpuštěného kyslíku ve vodě při hodnotách 6–7 mg/l (*Čítek a kol., 1998*) se slabě kyselou až středně alkalickou hodnotou pH (*Krupauer a Kubů, 1985*). Některá plemena kaprů jsou odolnější vůči chorobám jako jsou například edémová nemoc kaprů, nebo koi herpesviróza. Převážně se jedná o formy šupinatých kaprů, které jsou příbuzné původní formě divokého

kapra – amurskému sazanovi. K výtěru u těchto ryb dochází koncem jara v měsíci květnu až červnu. Patří mezi fytofilní druhy ryb. Rostoucí ryby následně po vykulení plůdku označujeme podle počtu prožitých vegetačních období:

- K_0 – váčkový plůdek
- K_r – rychlený plůdek kapra
- K_1 – plůdek kapra
- K_2 – násada kapra
- K_3 až K_4 – tržní kapr
- K_g/ K_{gen} – generační kapr

Tržní hmotnosti dosáhne kapr během 3 ž 4 let života v závislosti na teplotě a podmínkách. Takto staří jedinci se pohybují ve váhovém rozmezí 2,5 až 3 kg.

Typické pro kapra je spodní postavení úst na poměrně krátké hlavě s pevnými, pohyblivými rty se 4 vousky, které vytváří rypec (*Lusk a kol., 1992*). U kaprů divokých forem není přechod mezi temenní částí hlavy a hřbetem nijak výrazný (k vidění například u původní formy kapra sazana). Naopak u kaprů, kde v minulosti proběhl domestikační proces je tento přechod mnohem výraznější a v přechodu je viditelný tzv. hrb (*Baruš a Oliva, 1995*).

Má velmi rozmanitou tělesnou stavbu, která je ovlivněna především charakterem životního prostředí. V říčních podmínkách tekoucích vod se tělo přizpůsobuje hydrodynamice a je tak především válcovitého tvaru s menší tělesnou výškou. Ve vodách stojatých najdeme především ryby vysokohřbeté (*Krupauer a Kubů, 1985*). Tělo kaprů je kryto cykloidním typem šupin seřazených v 11 až 13 řadách nad sebou (rozdělují se postranní čárou (skládající se z 33–40 šupin) vedoucí ve středu trupu. Nad ní i pod ní je 5 až 6 řad šupin (*Krupauer a Kubů, 1985*). U divokých plemen kapra je veškerý povrch těla (kromě hlavy) pokryt šupinami. To však neplatí u domestikovaných druhů, kde je pokrytí šupin různě redukováno (*Hanel a Lusk, 2005*).

Dubský a kol. (2003) ve své publikaci podrobně popisují složení a počty tvrdých a měkkých paprsků ve všech ploutvích, která na tomto druhu najdeme. Jedná se o následující:

- Hřbetní ploutev (2 až 4 tvrdé, 15 až 24 měkkých paprsků)
- Ocasní ploutev (13 až 21 měkkých paprsků)
- Řítní ploutev (2 až 3 tvrdé, 3 až 7 měkkých paprsků)
- Břišní ploutev (1 až 2 tvrdé, 4 až 9 měkkých paprsků)
- Prsní ploutev (1 tvrdý a 13 až 19 měkkých paprsků)

Pro svůj typický způsob hledání potravy v sedimentu je mnohdy označován za vodní prase (Hule, 2003). Přijímání potravy a jeho složení je závislé na faktorech jako jsou fyzikální a chemické parametry vody (při poklesu teploty vodního prostředí pod 6 °C zastavuje kapr příjem potravy), ale také na stáří a zdravotním stavu obsádky/jedinců (Čítek a kol., 1998). Kapr je všežravý druh. Vyhledává převážně bentické a planktonní bezobratlé organismy, části vyšších rostlin nebo detrit. Nejčastější potravou ze zástupců bentosu jsou hlavně různé druhy hmyzu jako jsou chrostíci (*Trichoptera*), jepice (*Ephemeroptera*), pakomáři (*Chironomidae*), nebo také vodní měkkýši (*Mollusca*), nebo červi (*Helminthes*) (Lusk a kol., 1992). Příkrmován bývá často různými druhy obilovin.

Pro svůj rychlý růst, vysokou plodnost a rychlé dosažení pohlavní dospělosti, a příznivé hospodářské vlastnosti je kapr obecný jednoznačně na špici v produkci tržních ryb na našem území. Celoroční celková produkce kapra v akvakultuře se v České republice pohybuje okolo 17 370 t (*Rybářské sdružení České republiky, Produkce a trh ryb, 2020*).

Byly vyšlechtěny různé formy, které lze podle ošupení rozdělit na 4 základní fenotypy: **Šupinatý kapr** neboli kapr s pravidelným ošupením po celém těle. **Kapr lysec**, který má řadu větších šupin v okolí hřbetu a několik také na ocasním násadci a za skřelemi. Dále **kapr lysec řádkový**, který má pravidelnou linii šupin v okolí středu těla kopírující postranní čáru. Jako poslední – kapr hladký, který je bez šupin. (*Pivnička a Černý, 1998*).

Už v období, kdy byl ústřední postavou českého moderního rybníkářství Josef Šusta (druhá polovina 19./ začátek 20.století) byl na západoevropském trhu kapr lysé formy

mnohem žádanějším zbožím než fenotyp šupinatý. Opakem je poptávka na východním trhu (Asijském), kde převládá forma lysá! Možnost produkovat typ různých fenotypových druhů a nasycit tak poptávku trhu má tak dopad na ekonomickou situaci a trh v akvakultuře (Tave, 1986).

V České republice je v současnosti chováno 19 oficiálně uznaných plemen kaprů obecných (7 plemen šupinatých a 12 plemen lysých) (Gela a kol., 2009). Z těchto plemen můžeme dostat pomocí vzájemného křížení, nebo pomocí čistokrevné plemenitby jedince vhodné pro chov v konkrétních způsobech (Pokorný a kol., 1995).

2.5 DIAGNOSTIKA

Při zjištění zvýšeného hynutí ryb, nebo při atypickém chování rybí obsádky je nutné diagnostikovat důvod takových projevů. Pro správnou diagnostiku nemocí a chorobných stavů ryb je nutné, mít k dispozici reprezentativní vzorek ryb na vyšetření tak, aby se předešlo ztrátám. Mezi takové druhy vyšetření patří například níže popsané parazitologické, hematologické a biochemické vyšetření. Na základě těchto vyšetření může být stanovena definitivní diagnóza a návrh terapeutického opatření.

2.5.1 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Jako první je u parazitologického vyšetření nezbytné určit anamnestické údaje, které často usnadní samotnou diagnózu. Mezi tyto údaje patří například přesný druh a věková kategorie vyšetřovaných ryb, chovné podmínky, dosud provedená opatření a dosavadní průběh onemocnění. Následně se ryby šetrně a řádně usmrtí (Kolářová a kol., 2016). Poté přijde na řadu vnější vyšetření integrity organismu, při kterém hledáme výskyt makroskopických parazitů jako jsou například pijavky, kapřivci a podobně. Následuje vnější determinace mikroskopických parazitů, které determinujeme prohlídkou vnitřních a vnějších orgánů ryb. Hlavním úkolem vyšetření je provést kožní stěry z povrchu těla ryb a stěr z žaberního aparátu (část žaberního listu se může i odstříhnout a determinovat samostatně). Ty se naředí na podložním sklíčku malým množstvím vody pomocí kapátka. Poté se preparát mikroskopuje s nastavitelným rozlišením a zvětšením. Při ohledání vnitřních orgánů se zkoumá nejprve celý orgán a následně jeho části, tak aby se odhalilo i doznívající, nebo začínající parazitární onemocnění (Volf a Havelka, 1958). Pro průzkum a detailní vyhodnocení struktury zkoumané tkáně vnitřních orgánů, lze

odebrat vzorek, který je nutné zafixovat pomocí 4 % formaldehydu a následně ho vyhodnotit pomocí histologického vyšetření (*Ergens a Lom, 1970*).

2.5.2 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Správně vyhodnocené hematologické vyšetření u sladkovodních ryb nám může zrcadlit informace o jejich zdravotním a fyziologickém stavu, nebo vlivu různých ostatních environmentálních faktorů. Pomocí vyhodnocených parametrů lze sledovat zdravotní stav rybí obsádky, lépe diagnostikovat a rozlišovat druh onemocnění a studovat odezvu organismu na činnost patogenních agens (*Sebastiao a kol., 2011*). Toto vyšetření může sloužit také jako dobrý indikátor přítomnosti toxických a jiných škodlivých látek ve vodě, nebo přispět k přesné identifikaci onemocnění a následně vhodné volbě terapie (*Svobodová a kol., 1991*). Výsledky vyšetření mohou objasnit fyziologické a patologické pochody uvnitř nebo na povrchu živého organismu, popřípadě objasnit ostatní symptomy jako je například změna chování (*Masopust, 2000*).

2.5.2.1 KREV RYB

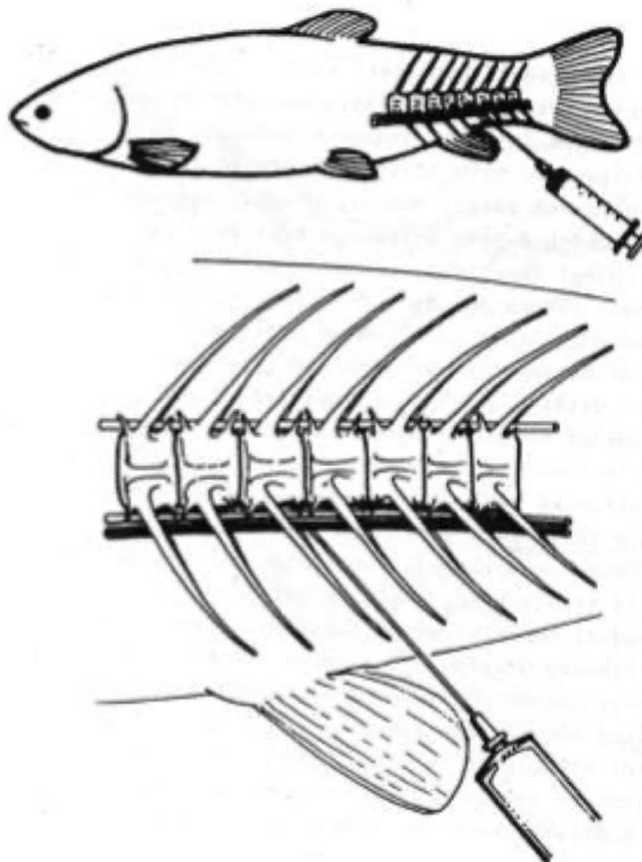
Rybí krev lze jednoduše popsat jako červeně zbarvenou tekutinu skládající se z tekutých a pevných součástí. Tekutá složka krve se skládá z krevní plazmy a pevná z krevních destiček a červených a bílých krvinek. Krev v těle ryb proudí v cévách uzavřeného tělního systému (*Novotný a kol., 1966*).

Množství krve u ryb je poměrně odlišné například od savců (8 %) a tvoří pouze 1 až 2% celkové hmotnosti ryby (U lososovitých druhů ryb může být až 5 %). Množství však může být odlišné v závislosti na druhu ryb a jiných faktorech (*Dubanský a Svobodová, 1995*). Primárně krev vzniká v hlavové ledvině. Při vyhodnocování výsledků je vždy nutné brát v potaz vnější i vnitřní faktory a vysokou variabilitu jednotlivých složek krve. K porovnání je tedy nezbytné využít i kontrolní skupinu ryb, která je chovaná ve stejných podmínkách.

2.5.2.2 ODBĚR KRVE

Nejčastěji používanou metodou odběru krve u živých ryb je odběr pomocí heparinizované injekční stříkačky z cév nacházejících se těsně pod páteří. Velikosti jehel se liší podle velikosti ryby, u které odběr provádíme. Na trhu je k dostání široký sortiment s různou délkou a průměrem jehel. Doporučuje se využívat hlavně plastové injekční stříkačky kvůli zkrácené době koagulace krve po kontaktu se sklem (*Smith, a kol., 1952*).

Aby se neznehodnotil vzorek hned na počátku odběru, je nutné vypláchnout celý objem injekční stříkačky heparinovým roztokem (Svobodová a kol. 1986). Před odběrem je možné použít krátkodobou anestezii a předejít tak náročnější manipulaci s rybami. Použití anestetik závisí na velikosti a množství ryb (Klontz a Smitih, 1968). Samotný odběr přichází na řadu ihned po odlovení ryby. Ryba se nejprve pomocí vlhkého hadru znehybní a zafixuje z důvodu snazší a bezpečnější manipulace rybou při vpichu jehly. Vždy se nechává odkrytý pouze ocasní násadec, tedy místo odběru tak, aby byl odběr co nejrychlejší a nedocházelo k rozsáhlejšímu mechanickému poškození ryb. Ještě, než se přejde k samotnému vpichu, je nutné místo průniku osušit. Vpich jehly vedeme pod úhlem 35° - 45° kraniodorzálním směrem kaudálně od řitní ploutve. Jehla pomocí mírného tlaku vyvíjenou na injekční stříkačku nejprve projde jednotlivými vrstvami kůže a svalovinou až do ocasní cévy nacházející se pod páteří. V ideálním případě se injekční stříkačka naplní krví díky vytvořenému podtlaku (viz obrázek č.12) (Svobodová a kol. 1986).



Obrázek č.12 - Odběr krve ryb pomocí metody odběru z ocasní cévy (Svobodová a kol., 1986).

Může se stát, že dojde k poškození žíly nebo tepny, která s cévou přímo sousedí. Injekční stříkačka se však většinou zastaví o obratel. Jehlu stačí pouze nepatrně povytáhnout z těla ryby, nebo jemně manipulovat stříkačkou do té doby, než se proud krve obnoví (*Doubek a kol., 2003*). Doporučuje se následná dezinfekce vpichu (*Svobodová a kol., 2012*). Po odběru krve je nutné vzorek zafixovat pomocí heparinu (vodný roztok soli heparinu) v množství 0,02 ml roztoku na 1 ml vzorku.

Jinou metodou odběru krve je metoda odběru přímo ze srdce ryby. Tato metoda se využívá převážně u menších druhů a mladých jedinců ryb ve stáří plůdku (*Piačková a kol., 2014*). Metodu samozřejmě lze využít i u starších, nebo tržních velikostí ryb. Musí se ale počítat s okamžitým usmrcením jedinců ihned po odběru (*Svobodová a kol., 2012*). Pro odběr se využívá injekční jehla, popřípadě skleněná kapilára. U obou možností se však musí dodržet postup a nejprve heparinovat vnitřní část jehly. Po odlovení z manipulační nádrže se ryba pevně zafixuje, osuší se břišní část, a místo vpichu tak, aby se vzorek nekontaminoval a neznehodnotil. Odběr se následně provede vpichem na místě osrdečníku (*Pravda a Svobodová, 2003*).

Z takto odebraných vzorků lze díky různým metodám určit hematologické parametry krve.

2.5.2.3 HEMATOLOGICKÉ PARAMETRY KRVE

Při hematologickém vyšetření stanovujeme celou řadu parametrů krve, které nám mohou pomoci např. při hodnocení zdravotního stavu ryb apod. Mezi takové parametry patří RBC (počet erytrocytů), WBC (počet leukocytů), Hb (množství hemoglobinu), PCV (hematokrit), MCV (střední objem erytrocytů), MCH (střední obsah hemoglobinu v erytrocytu), MCHC (střední barevná koncentrace).

Červené krvinky (RBC)

Červené krvinky či erytrocyty známé také pod zkratkou RBC lze charakterizovat jako plastické a pružné buňky s oválným jádrem diskovitého tvaru (*Dubský a kol., 2003*). Množství a velikost červených krvinek se u jednotlivých druhů ryb liší. Počty jsou ovlivněny druhovým zastoupením, pohlavím a pohlavní aktivitou, věkem ale také obdobím, chemismem vody nebo zdravotním stavem jedince (*Anderson a kol., 1985*).

Počet erytrocytů u zdravých kaprů je udáván v rozmezí 1,1- 1,8 T/l velikosti cca 12 x 7 μm (Svobodová a kol., 2012). To odpovídá množství zhruba 1,8 mil/mm³ krve (Novotný a kol., 1966). U pstruha obecného je množství červených krvinek v rozmezí 0,80 – 1,5 T/l (Svobodová a kol., 1991).

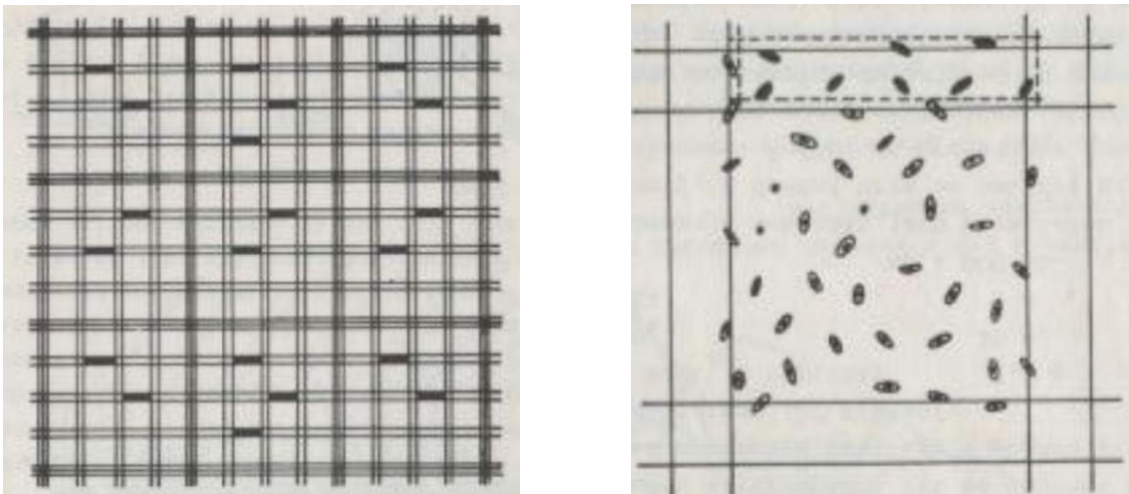
Jak už je zmíněno výše, erytrocyty jsou velmi plastické a pružné. Díky tomu můžou jednoduše flexibilně změnit svůj tvar a jsou perfektně uzpůsobeny pro průchod vlásečnicemi (Novotný a kol., 1966).

Tvorba a počty červených krvinek se v průběhu stárnutí jedinců průběžně mění. Při embryonálním, nebo larválním vývoji je množství erytrocytů velmi nepatrné. Snižuje se taky během zvýšené pohlavní aktivity při tření. S přibývajícím věkem se však množství zvyšuje. Intenzivnější a rychlejší metabolismus u samců zaručuje vyšší množství erytrocytů oproti samicích (Lusková, 1996).

Každá červená krvinka obsahuje hemoglobin tvořící více než 1/3 své hmotnosti. Hemoglobin je krevní barvivo, díky kterému jsou buňky charakteristicky zbarvené do červena. Je složený ze dvou částí. První složkou je globin neboli bílkovinová část a druhou barevná část zvaná hem, která na sebe váže dvojmocné nebo trojmocné železo. Množství hemoglobinu je také ovlivněno mnoha faktory jako jsou například věk, typ pohlaví, kondice, koncentrace kyslíku nebo pH a kvalita okolního prostředí (Genten a kol., 2009). Hlavní funkcí je transport kyslíku a oxidu uhličitého po těle. Schopnost je dána přítomností právě dvojmocného atomu železa, který je schopen vázat kyslík, nebo oxid uhličitý (Novotný a kol., 1966). Kromě plynů dokážou však přenášet i jiné látky jako jsou například látky s proteinovým základem/látky proteinové povahy. Ryby se oproti jiným živočichům vyznačují vyšší afinitou kyslíku (Pravda a Svobodová, 2003).

Jedním ze základních údajů krevního vyšetření je právě počet červených krvinek. Nejvíce se využívá metoda počítání v Bürkerově komůrce. Tato metoda spočívá v přesném naředění zafixované heparinizované krve Hayemovým roztokem v poměru 1: 200 (Svobodová a kol., 2012) nebo Natt-Herrickovým roztokem ve stejném poměru. K správnému naředění lze použít tzv. baničkovou metodu podle Bürkera. Ředění probíhá ve speciálních skleněných baničkách, do kterých je nutné nadávkovat 4975 μl Natt-Herrickova nebo Hayemova roztoku a 25 μl heparinizované odebrané krve. Takto nadávkovaný roztok se v uzavřené baňce pečlivě promíchá. Následně se pomocí mikropipety nebo kapátka naplní Bürkerova komůrka neboli hemocimetr (viz obr. 13 vlevo) (Pravda a Svobodová, 2003). Množství červených krvinek se následně počítá pod

mikroskopem při zvětšení 200x ve 20 obdélnících stejnoměrně rozmístěných po celé ploše počítané komůrky. Nejprve se spočítá celkové množství červených krvinek uvnitř daného obdélníku, které se nedotýkají stran. Z dotýkajících se krvinek se počítají pouze ty na jedné kratší a jedné delší zvolené straně zevnitř i z venku. Shodně se započítávají i krvinky dotýkající se dvou zvolených rohů (viz obr. 13 vpravo). Souhrnný počet se následně vydělí 100. Výsledek se udává v jednotkách **T/l** (**T-tera = 10^{12}**) (Svobodová a kol., 2012).



Obrázek č.13– Na levé straně náčrt Bürkerovy komůrky. Na pravé straně způsob počítání erytrocytů, kde se vyhodnocuje postavení a dotýkání se horních a pravých stran čtverce (Svobodová a kol. 1986).

Mnohem rychlejší, ale ne příliš využívanou metodou je Pawinského kolorimetrická metoda. Při této jednoduché metodě však dochází ke zkreslení výsledných hodnot z důvodu zvýšení středního objemu erytrocytů. Díky tomuto problému se při krevním vyšetření volí raději osvědčená a mnohem přesnější Bürkerova metoda (Svobodová a kol. 1986). Metoda spočívá v odběru krve heparinizovanou jehlou a důkladným promíchání krve s 10 ml Pawinského roztoku. Samotné měření probíhá na fotometru při vlnové délce 600nm v kyvetě o délce 1 cm. Množství červených krvinek se následně odečítá z kalibrační křivky, sestavené z paralelních měření pomocí Pawinského a Bürkerovy metody (Pravda a Svobodová, 2003).

Bílé krvinky (WBC)

Bílé krvinky či leukocyty známé také pod zkratkou WBC lze charakterizovat jako bezbarvé buňky. V krvi ryb je jich méně než červených krvinek. Jejich počet je závislý

na stáří, pohlaví a zdravotním stavu ryb (Novotný a kol. 1966). Množství bílých krvinek je výrazně ovlivněno probíhajícím onemocněním (Dubský a kol. 2003).

Podobně jako je tomu u savců, se bílé krvinky dělí na agranulocyty a granulocyty podle přítomnosti, či nepřítomnosti různě barvících se granul v cytoplazmě. Mezi granulocyty, které obsahují vysoké množství granul, řadíme bazofilní, neutrofilní a eozinofilní granulocyty – podle afinity k barvivům. Do skupiny agranulocytů (leukocyty bez přítomnosti granul) řadíme monocyty a lymfocyty (Pravda a Svobodová, 2003). Svobodová a kol. (2012) uvádí, že přítomnost a nepřítomnost barvících se granul není jediným rozpoznávacím znakem. Jednotlivé druhy lze rozeznat i podle velikosti, vnitřní struktury a tvaru jádra.

Každá skupina bílých krvinek má svou funkci, všechny se ale účastní procesů imunitního systému. Například eozinofilní granulocyty pomáhají při detoxikaci organismu. Monocyty zase dokážou odstranit vysokomolekulární koloidní částice z krevního oběhu a tráví hrubé částice cizorodé hmoty (Pravda a Svobodová, 2003).

Stanovení množství bílých krvinek se provádí ze vzorku heparinizované krve, kterou je nezbytné naředit Natt-Herrickovým roztokem v poměru 1:200 (Svobodová a kol., 2012). Je však nutné použít odstátý přefiltrovaný roztok (Pravda a Svobodová, 2003). Z takto připraveného vzorku můžeme zjistit množství leukocytů i erytrocytů. Erytrocyty rychle podléhají hemolýze a je nutné je spočítat jako první (Svobodová a kol., 2012). Vyhodnocování výsledků funguje na stejném principu jako určování erytrocytů. Leukocyty počítáme v Bürkerově komůrce s 50 čtverci při zvětšení 200x (Pravda a Svobodová, 2003). Aby se ještě více zpřesnily výsledky měření, může se vzorek počítat až ve 100 čtvercích a tento výsledek následně vydělit dvěma. Sčítají se pouze bílé krvinky uvnitř čtverců a následně ty, které se dotýkají okrajů dvou předem zvolených stran a hran.

Výsledné hodnoty se mezidruhově liší. U pstruha duhového jsou obecně hodnoty nižší a dosahují 10-60 G/l (G-giga = 10^9). U kapra obecného jsou tyto hodnoty 10-80 G/l (Svobodová a kol., 2012).

Hematokrit (PCV)

Hematokritová hodnota udává celkový objem erytrocytů v celkovém objemu krve. Pro její určení je naprosto nezbytné oddělit z odebraného vzorku krve erytrocyty od plazmy, z důvodu stanovení skutečného objemu. Oddělení probíhá na hematokritové odstředivce ve speciálních heparinizovaných kapilárách. Po dokonalém odstředění zjistíme procentuální zastoupení hematokritu na tzv. hematokritovém měřítku. Tato

hodnota uváděná v procentech se násobí koeficientem 0,01. Výsledná hodnota PCV se udává v l/l. Toto vyšetření je nepostradatelnou složkou krevního vyšetření. Fyziologické hodnoty se pohybují v rozmezí 0,28-0,40 l.l⁻¹ u kapra a 0,30-0,45 l.l⁻¹ u pstruha (*Svobodová a kol., 1991*).

Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin je krevní barvivo, které se podílí na transportu kyslíku. Množství hemoglobinu v krvi je u zdravého kapra v rozmezí 60-100 g/l (*Svobodová a kol., 2012*).

Stanovení hemoglobinu v krvi se provádí spektrofotometricky tzv. kyano-hemoglobinovou metodou. K vyhotovení je zapotřebí Kampen-Zijstrův nebo Drabkinův roztok. Do zkumavky se nejprve odměří 5 až 7 ml tohoto transformačního roztoku. Následně se přidá 20 až 25 µl čerstvé nebo zafixované heparinizované krve ryb. Zkumavka se následně důkladně promíchá. Je velmi důležité vzorek krve uchovávat ve velmi chladném prostředí při teplotě do 4 °C a vyhodnotit ho do 24 hodin po odběru (*Pravda a Svobodová, 2003*). U použití Kampen-Zijstrova roztoku je stanovení kratší, z důvodů rychlejší přeměny hemoglobinu na kyanohemoglobin (do 3 minut). Při použití Drabkinova roztoku se hemoglobin přeměňuje o 15-20 minut déle. Samotné měření se provádí fotometricky v kyvetě o délce 1 cm při nastavení přístroje 540–546 nm vlnových délek. Finální množství hemoglobinu se vyhodnocuje podle kalibrační křivky daného spektrofotometru (*Svobodová a kol., 2012*).

Z výše uvedených hodnot lze následně vypočítat další 3 základní hodnoty erytrocytů:

- **Střední objem erytrocytu (MCV - mean corpuscular volume)**

Je to hodnota, která vyjadřuje průměrný objem jednoho erytrocytu.

Lze vypočítat z hematokritové hodnoty a počtu erytrocytů podle vzorce:

$$\text{MCV} = \frac{\text{PCV} \times 100}{\text{RBC}}$$

Naměřená hodnota se pohybuje u zdravých jedinců pstruha duhového v rozmezí 350-400 fl, u zdravých jedinců kapra mezi 200-300 fl (*Svobodová a kol., 1986*).

- **Hemoglobin erytrocytu (MCH - mean corpuscular hemoglobin)**

Je to hodnota, která vyjadřuje průměrnou koncentraci hemoglobinu v jednom erytrocytu. Lze vypočítat z hemoglobinové hodnoty a počtu erytrocytů podle vzorce:

$$\text{MCH} = \frac{\text{Hb}}{\text{RBC}}$$

Výsledná hodnota je udávána v pikogramech (pg). U zdravých kaprů bývá v rozmezí 50-60 pg (*Svobodová a kol., 1986*).

- **Střední barevná koncentrace (MCHC - mean corpuscular hemoglobin concentration)**

Hodnota vyjadřující koncentraci hemoglobinu v objemové jednotce erytrocytů. Lze vypočítat z hemoglobinové a hematokritové hodnoty podle vzorce:

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb}}{\text{PCV}}$$

U zdravých kaprů je výsledná hodnota ideálně v rozmezí 0,20-0,26 l/l (*Svobodová a kol., 1991*).

2.5.3 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

Vnitřní stav ryb ovlivňují nejen endogenní faktory jako jsou pohlaví, reprodukční cyklus, věk nebo zdravotní stav, ale i velké množství exogenních faktorů (množství potravy, teplota vody, množství kyslíku apod.). Změny v biochemickém profilu krve jsou velmi citlivým indikátorem zdravotního stavu a jejich vyhodnocení je, vzhledem k množství ovlivňujících faktorů, velmi náročné (*Arthanari a Dhanapalan, 2016*). Výsledné hodnoty je tedy vhodné porovnávat s hodnotami ryb z kontrolních skupin, pokud takové skupiny máme k dispozici.

Pro biochemické vyšetření se nejčastěji používá krevní plazma. Plazmu získáme při odběru krve do zkumavky s antikoagulačním činidlem. Řádně odebraný vzorek krve se nejprve promíchá a následně odstředí 10 minut v odstředivce nastavené na 2000 otáček za minutu (*Yousaf a Powell, 2012*). Krev je nutné odstředit ideálně ihned po odběru (maximálně pak do 1 hodiny – mezi tím ji uchovávat v lednici při teplotách kolem 4 °C). Ke stanovení biochemických ukazatelů se používají biochemické analyzátory.

Ty umožňují za krátký časový úsek změřit vysoké množství analytů i při odebrání malého množství plazmy (*Braceland a kol., 2017*).

Mezi stanovované biochemické ukazatele patří: celkové množství bílkoviny (TP), koncentrace amoniaku (NH_3), koncentrace glukózy (GLU), laktát (Lak), koncentrace triacylglycerolů (TAG), enzymy (ALT, AST, LDH) a albuminy (ALB)

a) Celková bílkovina (TP)

Tento parametr udává celkové množství bílkovin/proteinů v krevní plazmě ryb. Je jedním z nejdůležitějších parametrů biochemického vyšetření a odráží celkovou kondici rybí obsádky. Je také součástí zkráceného kondičního testu, který se provádí před komorováním (*Svobodová a kol., 2012*). Pokles tohoto parametru může značit hladovění, choroby spojené s funkcí jater, nebo poruchy vstřebávání živin. U zdravých jedinců kapra obecného se koncentrace celkových bílkovin pohybuje rozmezí 16 až 45 g/l (*Kolářová a Velíšek, 2012*). V potaz se musí brát sezonní dynamika množství bílkovin v našich podmínkách, která je přímo ovlivněna potravní nabídkou. Proto jsou nejvyšší hodnoty zjišťovány v letních měsících. Ty nejnižší naopak v zimě (*Svoboda a kol., 2001*).

b) Albumin (ALB)

Albumin je protein krevní plazmy, který tvoří část celkové hmotnosti koncentrace plazmatických proteinů a slouží jako hlavní zásobník aminokyselin. Je syntetizován v játrech a hraje důležitou roli při tvorbě a udržování osmotického tlaku krve (*Ivanov, 2003*).

Obsah albuminu v krvi se liší podle druhu ryb. U kapra obecného (*Cyprinus carpio*) je obsah 2,5x vyšší než u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*). To je dáno především jinými potravními nároky, s kterými tato hodnota úzce souvisí. Převaha potravy živočišného původu zvyšuje obsah albuminu v krvi. Naproti tomu konzumace potravy převážně rostlinného původu přispívá k nižší koncentraci albuminů v krevní plazmě (*Chernyavskikh a kol., 2019*).

c) Amoniak (NH_3)

U sladkovodních ryb je amoniak konečným produktem dusíkového metabolismu. Vzniká především v ledvinách, játrech a svalovině (*Smutná a kol., 2002*). Při rychlých změnách vnějšího prostředí (pokles teploty, pokles koncentrace kyslíku ve vodním prostředí, nebo zvýšení pH) může dojít k autointoxikaci. Dojde totiž k narušení

rovnováhy mezi exkrecí a produkcí amoniaku a ke zvýšení jeho množství v krvi ryb. Koncentrace v rybím těle je velmi variabilní. U zdravých jedinců kapra obecného se koncentrace v zimních měsících pohybuje v rozmezí 50 až 100 $\mu\text{mol/l}$. Ve vegetačním období může koncentrace vzrůst až 10x na 500 až 700 $\mu\text{mol/l}$ (Svobodová, 2019).

d) Glukóza (GLU)

Množství glukózy je u ryb indikátorem stresu. Dalšími faktory, které ovlivňují hladinu glukózy v organismu jsou teplota vody, množství kyslíku ve vodě nebo množství a druhové složení potravy (Polakof a kol., 2012).

e) Laktát (Lak)

Tato látka vzniká v organismu při anaerobní glykolýze. Koncentrace laktátu je závislá na jeho produkci ve tkáních a odbourávání v játrech. Tvorba laktátu je u rybí obsádky vyšší při hypoxii, nebo v období výlovů při vyšší spotřebě energie. Vytvořený laktát v krvi ryb zůstává mnohem déle, než je tomu u savců (u kostnatých ryb trvá navrácení do původních hodnot 12 až 24 hodin (Hazel, 1993). U zdravých jedinců kapra obecného se množství laktátu pohybuje v rozmezí 0,52 až 6,32 mmol/l (Kolářová a Velíšek., 2012).

f) Triacylglyceroly (Triglyceridy, TAG)

Množství triglyceridů je indikátor lipidového metabolismu. U zdravých jedinců kapra se koncentrace pohybuje mezi 0,49 až 2,83 mmol/l (Kolářová a Velíšek, 2012).

g) Enzymy (AST, ALT, LDH)

Další skupinou v rámci biochemického vyšetření krve jsou mitochondriální a cytoplazmatické enzymy. Do této skupiny patří AST (Aspartátaminotransferáza), ALT (alaninaminotransferáza), LDH (laktádehydrogenáza), ale také enzymy vázané na buněčnou membránu – ALP (alkalická fosfatáza) (Kolářová a Velíšek, 2012).

Při poškození rybí tkáně se do krevního oběhu uvolňují tzv. intracelulární enzymy. Při menším poškození dojde ke změně permeability buněčných membrán a v krvi se následně vyskytnou i cytosolické (intracelulární) enzymy. Při závažnějším poškození tkáně, které je doprovázeno nekrózou buněk nacházíme v krvi i enzymy mitochondriálního typu (Polakof a kol., 2012).

Aspartátominotransferáza (AST) je mitochondriální enzym, který se nachází ve velké většině vnitřních orgánů. Nalezneme ho v srdci, ledvinách, játrech, ale také v kosterní svalovině. Množství AST je indikátorem poškození svaloviny a jater (*Sampath a Manavalaramanujam, 2002*).

Alaninaminotransferázu (ALT) detekujeme především v játrech a lokalizujeme ji v cytosolu. V ostatních orgánech je podstatně nižší. Je citlivější marker, než AST a z buněk se uvolňuje už při malém tkáňovém poškození. Naměřené množství dobře koreluje s rozsahem poškození jater (*Knudsen a kol., 2016*).

Laktátdehydrogenáza (LDH) je cytosolický enzym uvolňující se do krve už při velmi malém poškození tkáně. Je tak citlivým indikátorem tkáňového poškození (*Yousaf a Powell, 2012*).

Alkalická fosfatáza (ALP) je enzym vázaný pomocí membrán, který je obsažen především v kostře a játrech ryb (*Yousaf a Powell, 2012*).

h) Chloridy (Cl⁻)

Jsou nezbytné pro udržení osmotické a acidobazické rovnováhy. Do těla sladkovodních ryb se chloridy dostávají především chloridovými buňkami žaberního aparátu. Velká většina chloridů se absorbuje zpět do krve pomocí ledvin (*Greenwell a kol., 2003*).

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část byla provedena formou dvou pokusů – laboratorní pokus s plůdkem kapra obecného (*Cyprinus carpio*) realizovaný v akvarijní místnosti Fakulty rybářství a ochrany vod ve Vodňanech a provozní pokus s tržní velikostí kapra realizovaný na sádkách Rybářství Lnáře v Rožmitále pod Třemšínem.



Obrázek č.14 – Ryby použité v laboratornímu experimentu ve VÚRH Vodňany v akváriu během probíhajícího experimentu (*vlastní zdroj*).

3.1 LABORATORNÍ EXPERIMENT

Pokus probíhal od 7.12. - 15.12.2020. Pro experiment byla využita pokusná akvária v místnostech laboratoře vodní toxikologie a ichthyopatologie. Před začátkem experimentu byla akvária vydesinfikována přípravkem s 5% obsahem chlornanu sodného a důkladně očištěna vodou. Pro experiment bylo využito 5ti třístalitrových akvárií naplněných vodou do ½ objemu. Experiment probíhal za stálých podmínek prostředí při průměrné teplotě vody 15 °C za přítomnosti aerace v podobě vzduchovacích kamínků.

Při experimentu nebyla použita žádná umělá svítidla a probíhal tedy podle aktuálních světelných podmínek odpovídající zimnímu období (prosinec).

Do experimentu bylo nasazeno 58 ks kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) o průměrné hmotnosti $42 \pm 14,33$ g získaných z terénních podmínek. Ryby byly po dobu 1 dne aklimatizovány společně v kádi o objemu 500 l. Před samotným pokusem bylo hematologicky a parazitologicky vyšetřeno 8 ks ryb. Zbylé ryby byly rozděleny po 10 kusech do 5 akvárií a byly po dobu 8 dnů vystaveny účinkům chloridu sodného nebo kyseliny peroctové (KPO), a to následovně:

- **Kontrola** - ryby ponechány ve vodovodní vodě
- **NaCl 2** - ryby exponovány 2 g/l NaCl
- **NaCl 5** - ryby exponovány 5 g/l NaCl
- **KPO 1** - ryby exponovány 1 mg/l KPO 2x denně
- **KPO 10** - ryby exponovány 10 mg/l KPO jednorázově

Aplikace NaCl byla prováděna obden bezprostředně po výměně poloviny objemu vody v akváriu. Aplikace 1mg/l KPO probíhala 2x denně, vždy v 9:00 a 16:00, zatímco aplikace 10mg/l KPO proběhla jednorázově, s cílem vysledovat citlivost ryb vůči takovéto silné jednorázové dávce. Pro přípravu koupele u skupiny KPO 1 a KPO 10 byl použit přípravek Persteril 15 v deklarovaném složení: KPO 14-17 %; H₂O₂ 20-25 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1 %.



Obrázek č.15 – Akvárium o objemu 300 l, v němž probíhal experiment (*vlastní zdroj*).

Názvy jednotlivých skupin byly odvozeny od použité koncentrace aplikované látky. Pro přípravu koupele testované skupiny NaCl 2 g/l bylo použito 300 g kuchyňské soli, která se prvotně rozpustila v 10 l nádobě a následně přelila do akvária tak, aby došlo k jejímu úplnému rozpuštění a promíchání s připravenými 140ti litry vody v akváriu. U skupiny NaCl 5 g/l bylo pro přípravu koupele použito 750 g kuchyňské soli na 150 l vody. Do akvária skupiny KPO 1 byl aplikován 1 ml Persterilu 15 /150 l vody pro dosažení koncentrace KPO odpovídající 1 mg/l. Do poslední testované skupiny KPO 10 bylo aplikováno 10 ml Persterilu 15 / 150 l vody pro dosažení koncentrace KPO odpovídající 10 mg/l.

Fyzikální vlastnosti vody byly denně měřeny přístrojem MultiLine P4 od výrobce WTW. Zaznamenávány byly hodnoty pH, teploty vody (°C), koncentrace kyslíku (mg/l) a nasycení vody kyslíkem (%).



Obrázek č.16 – Každodenní měření a zaznamenávání chemických a fyzikálních parametrů vody pomocí multimetru Multiline P4 (*vlastní zdroj*).

Po 8 dnech (15. prosince) expozice byla vždy 7mi rybám ze skupiny odebrána krev, následně byly usmrceny zastříhnutím míchy za hlavou a bylo provedeno jejich parazitologické vyšetření.

Odběr krve byl proveden pomocí heparinizovaných injekčních stříkaček z ocasní cévy (*vena caudalis*) (Obr. č.17). Takto odebrána krev byla zpracována podle metodiky Svobodové a kol. (2012). Stanovení hematologických parametrů proběhlo neprodleně po odebrání vzorků. Krevní plazma, získaná odstředěním krve po dobu 5ti minut při 10 000 otáčkách/min., byla bezprostředně po odběru zamražena na -80°C a skladována do doby provedení biochemických analýz.

3.1.1 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Hematologické vyšetření obsahovalo stanovení: RBC (počet erytrocytů), WBC (počet leukocytů), Hb (množství hemoglobinu), PCV (hematokrit), MCV (střední objem

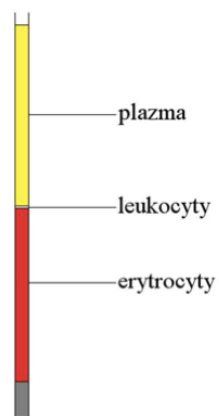
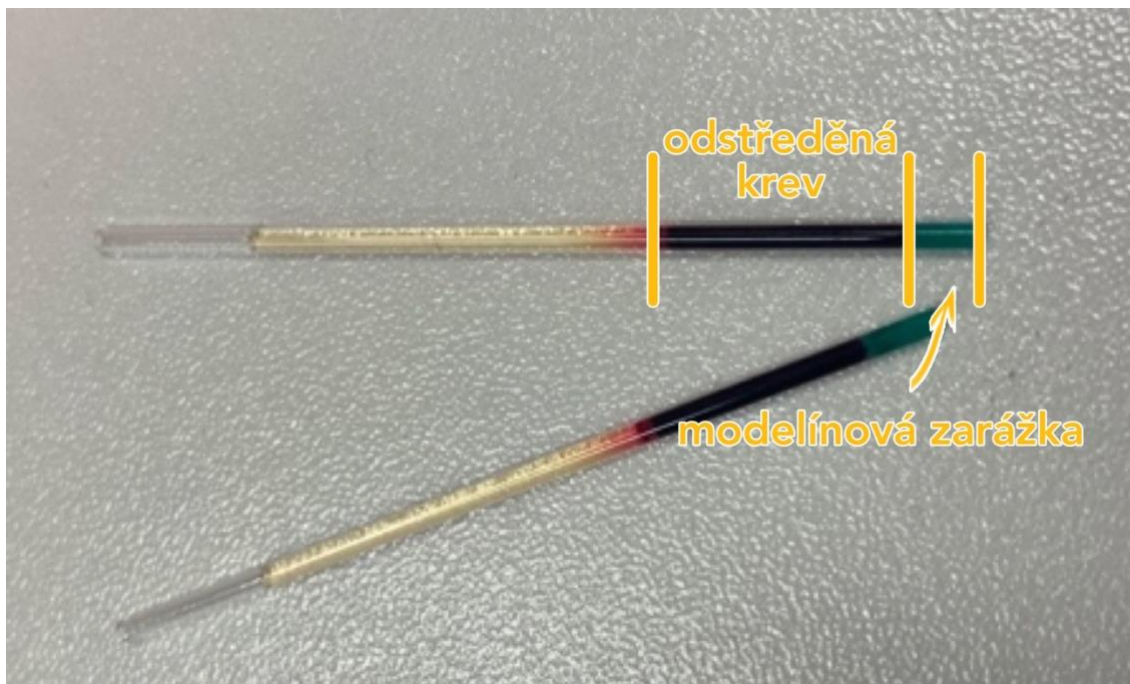
erytrocytů), MCH (střední obsah hemoglobinu v erytrocytu), MCHC (střední barevná koncentrace).



Obrázek č.17 – Detailní snímek odběru krve z podpáteční cévy za pomoci heparinizované jehly (vlastní zdroj).

Stanovení RBC (počtu erytrocytů) a WBC (počtu leukocytů) je upřesněno v kapitole 2.5.2 Hematologické vyšetření. Pro stanovení RBC bylo potřeba odebranou krev naředit Hayemovým roztokem (1,25 g chloridu rtuťnatého (HgCl_2), 12,5 g síranu sodného (Na_2SO_4), 2,5 g chloridu sodného (NaCl) a 500 ml destilované vody) v poměru 1:200.

Pro stanovení PCV byly použity skleněné kapiláry naplněné do $\frac{3}{4}$ krví, které se odstředily při 14 000 otáčkách/min. po dobu 3 minut (obr. č.18). Po odstředění byly výsledky PCV odečteny pomocí posuvného měřítka s noniem (obr. č.19).



Obrázek č.18 – Již odstředěné skleněné kapiláry připravené pro vyhodnocování PCV. Lze vidět tmavou (červenou) část před modelínovou zarážkou – erytrocyty, a průhlednou (žlutou) část – plazmu (*schéma – Svobodová a kol., 2012*).



Obrázek č.19 – Finální stanovení PCV pomocí posuvného měřítka s noniem (*vlastní zdroj*).

Stanovení Hb (množství hemoglobinu) bylo provedeno fotometrickou kyanohepiglobinovou metodou, jejímž principem je použití transformačního roztoku podle van Kampena a Zijlstra ve složení 0,10 g ferrikyanidu draselného $K_3(Fe(CN)_6)$, 0,07 g dihydrofosforečnanu draselného KH_2PO_4 , 0,025 g kyanidu draselného KCN a 500 ml destilované vody. Princip metody spočívá v rozrušení buněčné stěny erytrocytů roztokem ferrikyanidu draselného a následném uvolnění hemoglobinu z erytrocytů. Hemoglobin je přeměněn na stabilní kyanohepiglobin, jehož koncentrace se stanovuje spektrofotometricky (Obr. č. 20). Prakticky se do 5 ml transformačního roztoku přidá pipetou 20 μ l krve. Směs se důkladně promísí a oproti čistému transformačnímu roztoku se pomocí spektrofotometru při vlnové délce 540 nm měří absorbance. Z kalibrační hemoglobinové křivky se poté odečte množství hemoglobinu v g/l.



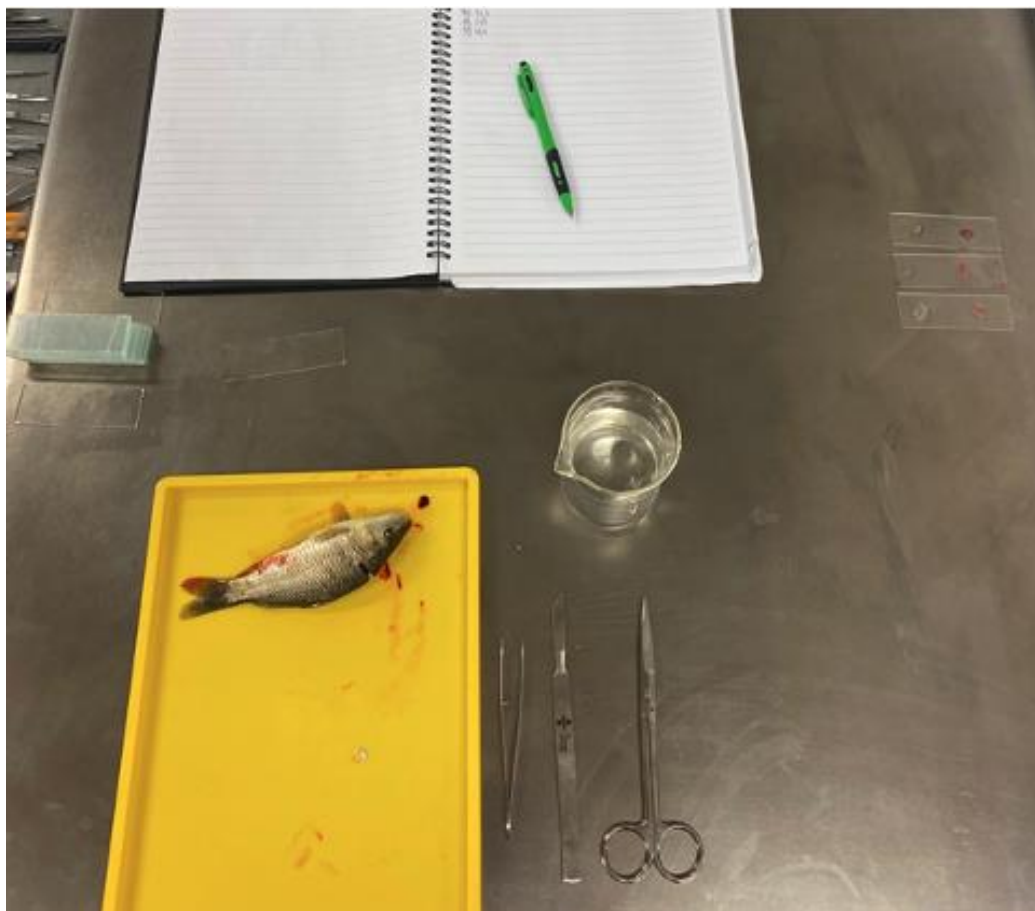
Obrázek č.20 – Spektrofotometr využívaný pro stanovení množství hemoglobinu (Hb) při nastavené vlnové délce 540 nm (*vlastní zdroj*).

3.1.2 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

Biochemický profil krve byl stanovován z krevní plazmy získané odstředěním odebrané heparinizované krve uložené následně v hlubokomrazícím boxu při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do zpracování. Biochemické indikátory byly stanoveny na analyzátoru VETTEST 8008 (IDEXX Laboratories Inc. U.S.A.) firmy Medisoft. Příklad pracuje na principu suché chemické a kolorimetrické analýzy. Vyhodnocení probíhá na selektivních testovacích discích (Multi –layer film slides, Kodak), laserovým čtením bar kódů. Stanoveny byly následující parametry: glukóza (GLU), celkové bílkoviny (TP), albuminy (ALB), alanin aminotransferáza (ALT), aspartát aminotransferáza (AST), laktát dehydrogenáza (LDH), triacylglyceroly (TAG) a amoniak (NH_3).

3.1.3 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Po odběru krve byly odebrány vzorky pro parazitologické vyšetření (obr. č.21). Postup tohoto vyšetření byl stejný u všech zkoumaných jedinců. Pomocí skalpelu byla jedním táhlým pohybem setřena kůže pod hřbetní ploutví (kožní stěr) a po umytí skalpelu byl setřen první žaberní oblouk od chrupavky až po konec žaberních lístků (žaberní stěr). Tyto vzorky byly umístěny na podložní sklíčko, byla na ně přidána kapka vody a byly překryty krycím sklíčkem. Takto zhotovený preparát byl připraven na determinaci rybích parazitů pomocí mikroskopu při 40 až 100násobném zvětšení.



Obrázek č.21 – Pomůcky pro provedení parazitologického vyšetření (vlastní zdroj).

Výsledky hematologických a biochemických rozborů byly vyhodnoceny a porovnány statistickým programem STATISTICA (verze 8.0 pro Windows, StatSoft) za použití dvoucestného ANOVA testu a byly zaznamenány statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($P < 0,05$ a $P < 0,01$).

Parazitologické vyšetření bylo vyhodnoceno pomocí vypočítané prevalence (v %) a pomocí průměrného stupně intenzity nalezených druhů infekcí vypočítaný pouze

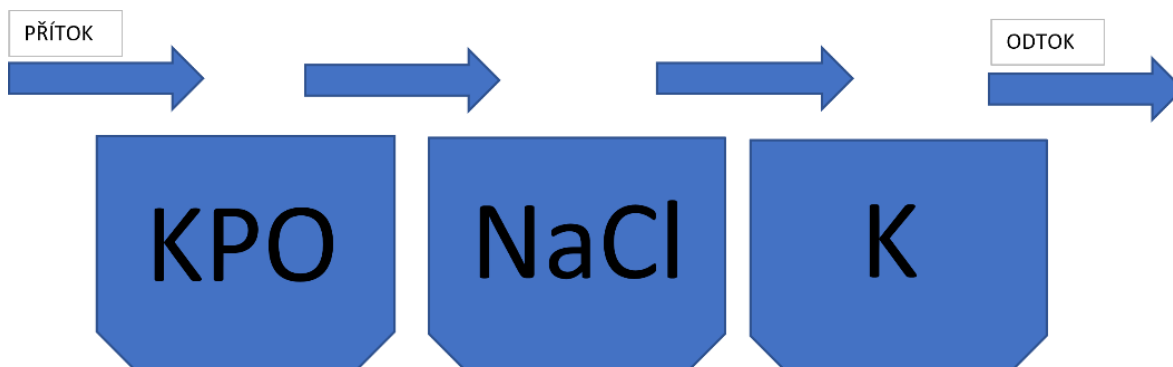
z infikovaných ryb. Pro determinaci stupně parazitární infekce jsem využíval tabulku č.3. Výsledky byly porovnány a vyhodnoceny v programu RStudio (verze pro Windows) za použití Kruskal-Wallis a Post hoc testu a byly zaznamenány signifikantní / statisticky významné rozdíly na hranici významnosti $P < 0,05$.

Tabulka č.3 Determinace stupně parazitární infekce na stupnici 0-4

Označení	Slovní hodnocení	Jiné označení	Nalezené množství
0	bez nálezu	bez	0 ks
1	ojediněle	oj.	1-3 ks
2	větší nález	+	3-7 ks
3	infekce	++	7-14 ks
4	silná infekce	+++	> 14 ks

3.2 PRAKTICKÝ POKUS

Druhý, již praktický pokus s kapry tržní velikosti a s plůdkem kapra probíhal na sádkách Rybářství Lnáře v Rožmitále pod Třemšínem. Tento test byl rozdělen do několika menších experimentů napříč měsíci. Jednotlivé testy pak probíhali v měsících: duben, květen, červenec a září.



Obrázek č.22 – Schéma průběhu experimentu na sádkách v Rožmitále pod Třemšínem a směr proudění vody v haltýřích (*vlastní zdroj*).

Experimenty probíhaly ve 3 zemních haltýřích (obr. č. 22) za stálého přítoku a odtoku vody, bez přítomnosti aerace. Experiment probíhal podle aktuálních venkovních světelných i klimatických podmínek v daném měsíci. Po ukončení experimentu bylo vždy provedeno parazitologické vyšetření testovaných ryb.



Obrázek č.23 – Pokusné zemní haltýře, ve kterých probíhaly praktické provozní experimenty na sádkách v Rožmitále pod Třemšínem. Na fotografii lze vidět spuštění hladiny vody na $\frac{1}{2}$ před druhým experimentem (*vlastní zdroj*).

První experiment byl proveden 20. dubna 2020 a trval 7 dnů. V experimentu bylo použito 30 ks plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) o průměrné váze 37 ± 17 gramů. Ryby byly po odlovení vrhací sítí z rybníka rozděleny do tří skupin po 10 ks a vysazeny do haltýřů s plnou hladinou vody. První skupina nesla označení **K**, tedy kontrola. Do druhého haltýře byl aplikován Persteril 15 % 1x denně. Dosažená koncentrace KPO byla 1 mg/l – skupina **KPO**. Do třetího haltýře byla aplikována sůl NaCl též 1x denně v množství 5 g/l – skupina **NaCl**. Po 7denní expozici byly ryby odloveny a následně podrobeny parazitologickému vyšetření se stejným postupem jako v laboratorním experimentu.

Druhý experiment probíhal od 11. května 2020 a rovněž trval 7 dnů. 30 ks plůdku kapra obecného o průměrné hmotnosti 34 ± 12 gramů bylo rozděleno do 3 skupin (3 haltýřů). Experiment se lišil expoziční koncentrací způsobenou polovičním množstvím vody v haltýřích. Jedna ze skupin byla kontrolní skupina - **K**. Do druhého haltýře byl aplikován 1x denně Persteril 15 % s dosažením cílové koncentrace účinné látky KPO 2 mg/l. Změna koncentrace nastala také u třetí skupiny, kde bylo aplikováno 1x denně 10 g/l NaCl. Po 7 dnech byly ryby parazitologicky vyšetřeny.

Třetí experiment probíhal od 29. června po dobu 12 dnů (prodloužili jsme dobu expozice o 4 dny) se stejným množstvím plůdku kapra obecného o průměrné hmotnosti

32±14 gramů, při stejných koncentracích jako v předešlém experimentu, což znamená 1x denně 2 mg/l KPO a 10 g/l NaCl. U skupiny KPO byl zaznamenán úhyn přibližně 20 ks z blíže nespecifikovaných důvodů. Po ukončení experimentu bylo u ryb provedeno parazitární vyšetření.



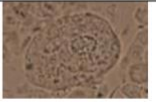
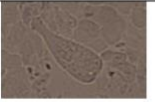






Čtvrtý pokus probíhal v letních měsících při odlovech tržních velikostí kapra obecného. Na experiment bylo využito 18 ks tržního kapra o průměrné váze 1750 g. Ryby byly aklimatizovány 10 dní na sádkách. Následně byly stejně jako při předešlých pokusech rozděleny do 3 skupin – kontrola, KPO a NaCl. Použité koncentrace byly zachovány a aplikovány v množství 1x denně 2 mg/l Persterilu a 10 g/l NaCl. Délka experimentu na poloviční vodě trvala 7 dnů, po kterých byly ryby parazitologicky vyšetřeny.

Dále byl od 24. září 2020 proveden zkušební doplňkový experiment na tržních kapech i plůdku z letních odlovů. Plůdek byl ponechán po dobu jednoho týdne ve velké sádce s přidaným kvádrem soli. Ta se v sádce měla postupně rozpouštět a uvolňovat do vodního prostředí a působit tak na nasazené ryby. Po 7 dnech bylo na 10 kusech náhodně vybraných ryb provedeno parazitologické vyšetření.

Jak už je zmíněno výše, u všech testovaných ryb bylo vždy provedeno parazitologické vyšetření kůže a žaber. Pomocí skalpelu byl odebrán kožní stěr a po omytí skalpelu žaberní stěr (stěrem od chrupavky až po konce žaberních lístků). Takto odebrané vzorky byly umístěny na podložní sklíčka s přidáním kapky vody a následně překryty krycím sklíčkem. Zhotovené preparáty byly tedy připraveny na determinaci parazitů pomocí mikroskopu při 40 až 100x zvětšení.

Determinované vzorky byly následně vyhodnoceny pomocí vypočítané prevalence (v %) a pomocí stupně intenzity nalezených druhů infekcí vypočítaného pouze z infikovaných ryb. Pro determinaci stupně parazitární infekce jsem využíval taktéž tabulku č. 3. Tyto výsledky byly porovnány a vyhodnoceny v programu RStudio (verze pro Windows) za použití Kruskal-Wallis a Post hoc testu a byly zaznamenány signifikantní (statisticky významné) rozdíly na hranici významnosti $P < 0,05$.

Tabulka č.4 - Tabulka využívaná k mikroskopické determinaci parazitů (*Kolářová a kol., 2016*)

Název parazita	<i>Ichthyobodo necatrix</i>	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Chilodonella</i> sp.	<i>Apiosoma</i> sp.	<i>Epistylis</i> sp.
Velikost (μm)	12–20	17–60	60–80	60–80	60–80
Foto					
Název parazita	<i>Ambiphrya</i> sp.	<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	<i>Gyrodactylus</i> sp.	<i>Dactylogyrus</i> sp.	<i>Argulus</i> sp.
Velikost (μm)	60–90	50–1 000	500–1 500	500–1 500	až 15 000
Foto					

4. VÝSLEDKY

4.1 VÝSLEDKY LABORATORNÍHO EXPERIMENTU

4.1.1 HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

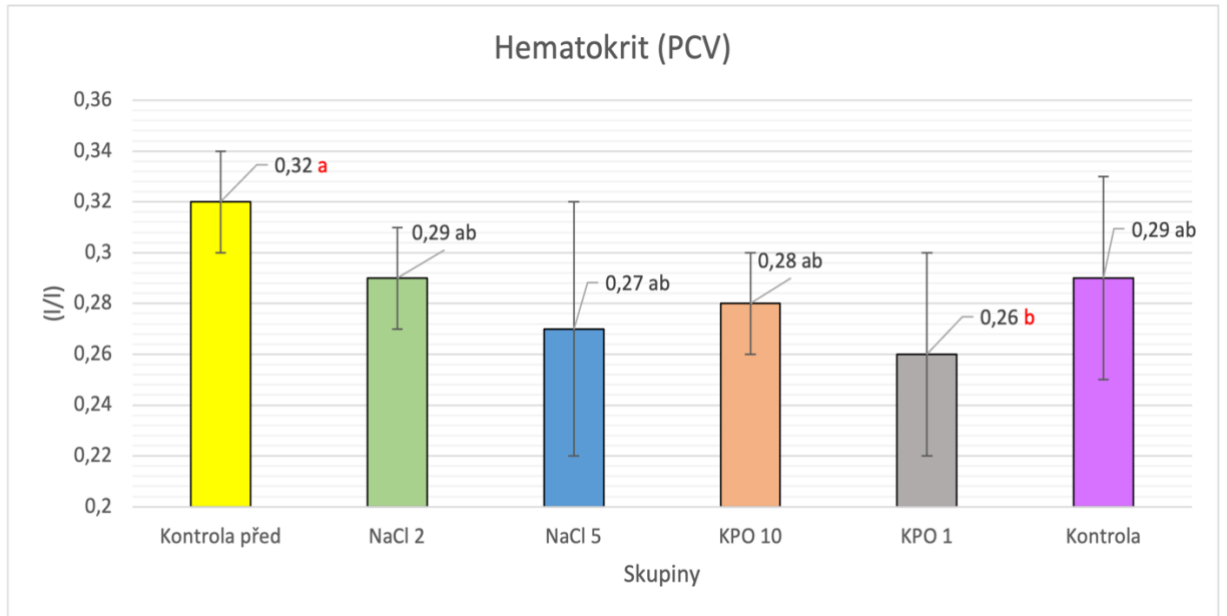
Z výsledků naměřených hodnot hematologických parametrů uvedených v tabulce č.4 je patrné, že při pokusu došlo ke statisticky významné změně pouze u jednoho parametru. Hodnota hematokritu (PCV) ve skupině KPO 1 byla statisticky významně nižší ($P < 0,05$) než hodnota z kontrolní skupiny naměřená bezprostředně před začátkem testu (graf č. 1). Nepatrné snížení hodnot bylo zaznamenáno také u hemoglobinu ve skupinách KPO 1 a KPO 10. Uvedené rozdíly však nebyly statisticky významné. Další naměřené hodnoty hematologických parametrů u kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) se statisticky významně nelišily od hodnot kontrolních skupin ryb.

Tabulka č.5 - Výsledky hematologického vyšetření plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) z laboratorního experimentu. V tabulce jsou uvedeny hodnoty kontrolní skupiny a doplňkové kontrolní skupiny odebrané před samotným experimentem. Dále hodnoty naměřené u skupin NaCl 2, NaCl 5, KPO 1 a KPO 10. Jednotlivé ukazatele jsou vyjádřeny v podobě průměru s doplněním plusové a minusové směrodatné odchylky.

Parametr (jednotky)	Kontrola před	NaCl 2	NaCl 5	KPO 10	KPO 1	Kontrola
	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)	$\bar{x} \pm SD$ (n=7)
RBC (T/l)	$1,44 \pm 0,17^a$	$1,47 \pm 0,12^a$	$1,38 \pm 0,29^a$	$1,47 \pm 0,34^a$	$1,33 \pm 0,24^a$	$1,48 \pm 0,27^a$
WBC (G/l)	$44,94 \pm 13,79^a$	$67,29 \pm 21,79^a$	$53,71 \pm 12,81^a$	$51,93 \pm 14,24^a$	$52,5 \pm 13,76^a$	$53,07 \pm 15,81^a$
PCV (l/l)	$0,32 \pm 0,02^a$	$0,29 \pm 0,02^{ab}$	$0,27 \pm 0,05^{ab}$	$0,28 \pm 0,02^{ab}$	$0,26 \pm 0,04^b$	$0,29 \pm 0,04^{ab}$
Hb (g/l)	$76,22 \pm 10,75^a$	$71,87 \pm 4,76^a$	$74,13 \pm 14,06^a$	$67,97 \pm 15,48^a$	$68,59 \pm 9,25^a$	$71,41 \pm 9,64^a$
MCV (fl)	$224,60 \pm 19,89^a$	$199,71 \pm 17,90^a$	$201,38 \pm 20,36^a$	$196,89 \pm 37,97^a$	$201,22 \pm 43,48^a$	$199,43 \pm 25,74^a$
MCH (pg)	$53,18 \pm 7,22^a$	$48,97 \pm 3,54^a$	$54,49 \pm 6,75^a$	$47,68 \pm 14,93^a$	$52,76 \pm 9,80^a$	$49,34 \pm 7,89^a$
MCHC (l/l)	$0,24 \pm 0,03^a$	$0,25 \pm 0,01^a$	$0,27 \pm 0,02^a$	$0,24 \pm 0,05^a$	$0,26 \pm 0,01^a$	$0,25 \pm 0,01^a$

*Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$. Tyto změny jsou pro lepší přehlednost zvýrazněny žlutou barvou.

Graf č.1 - Hematokrit (PCV) u testovaných skupin kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Znázorněny jsou: kontrolní skupina před a po experimentu, testované skupiny NaCl 2 (NaCl 2 g/l), NaCl 5 (NaCl 5 g/l) a KPO 10 a KPO 1 (KPO v koncentracích 1 a 10 mg/l). Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ ve skupině Kontrola před (experimentem) a ve skupině KPO 1.



4.1.2 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

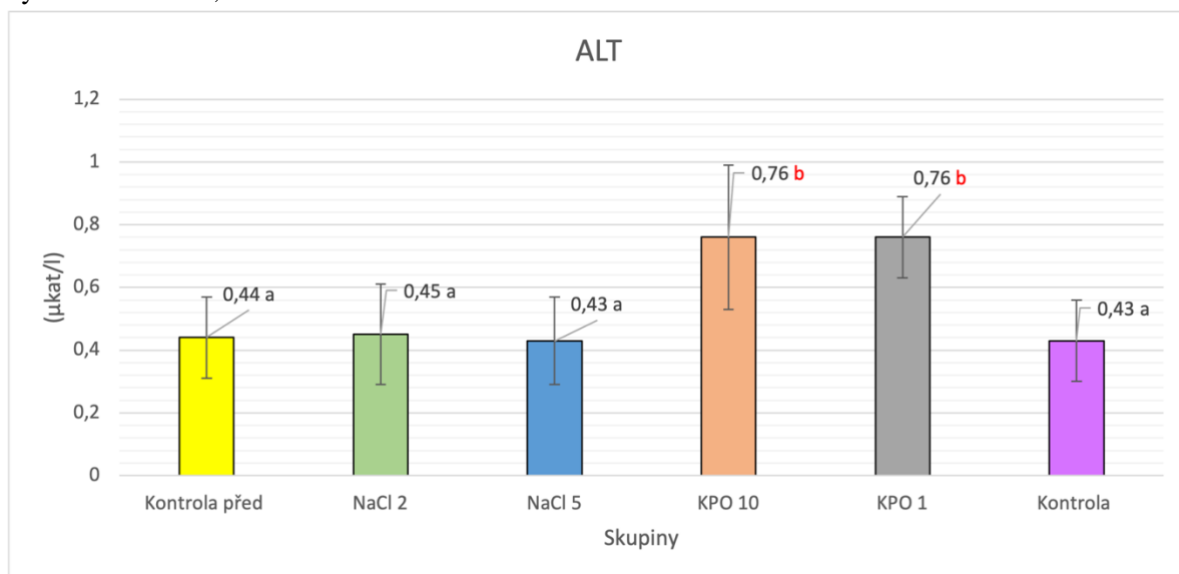
V biochemickém profilu došlo k statisticky významnému zvýšení aktivity ($P < 0,05$) ALT, AST a LDH u skupin KPO 1 a KPO 10 v porovnání s kontrolami (graf č. 2). Hodnoty NH_3 v plazmě byly u těchto skupin (KPO 1 a KPO 10) rovněž v porovnání s kontrolami statisticky významně vyšší ($P < 0,05$). Všechny hodnoty jsou uvedeny v tabulce č.5.

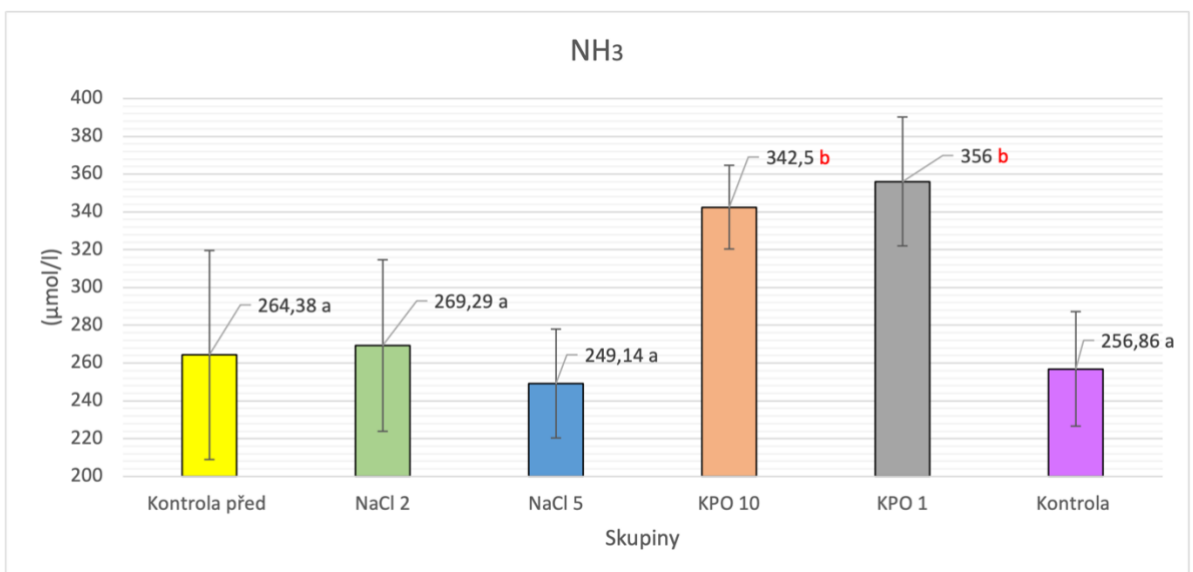
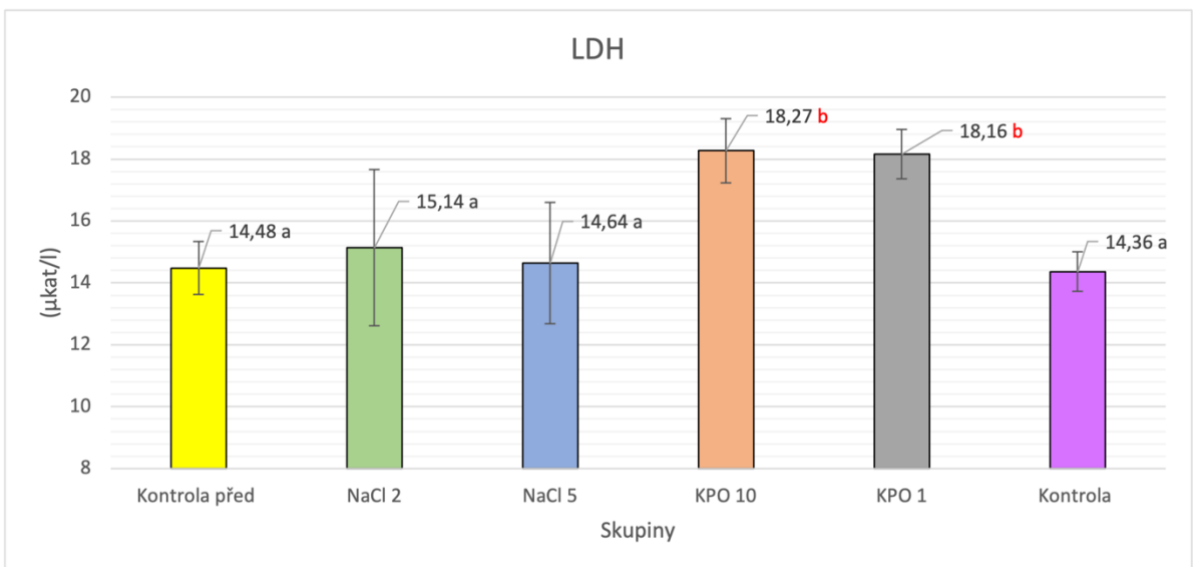
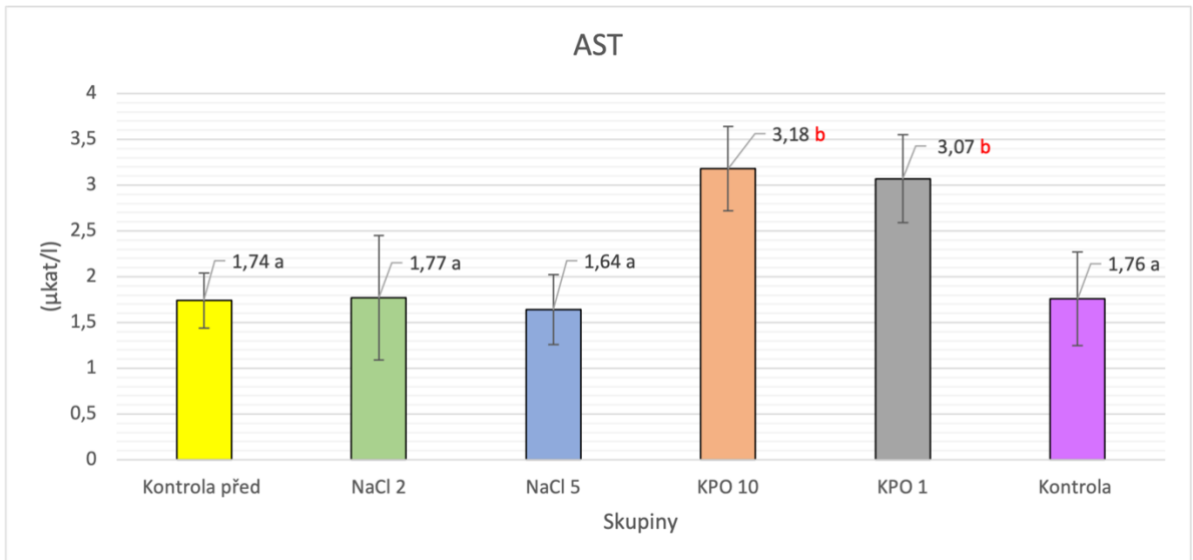
Tabulka č.6 - Výsledky biochemického vyšetření plazmy od plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z laboratorního experimentu. V tabulce jsou uvedeny hodnoty kontrolní skupiny a doplňkové kontrolní skupiny odebrané před samotným experimentem. Dále hodnoty naměřené u skupin NaCl 2, NaCl 5, KPO 1 a KPO 10. Jednotlivé ukazatele jsou vyjádřeny v podobě průměru s doplněním plusové a minusové směrodatné odchylky.

Parametr	Jednotky	Kontrola před	NaCl 2	NaCl 5	KPO 10	KPO 1	Kontrola
		$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=7)$
GLU	mmol/l	2,69 ± 0,60 ^a	2,76 ± 0,28 ^a	2,68 ± 0,72 ^a	2,83 ± 0,48 ^a	2,63 ± 0,25 ^a	2,70 ± 0,24 ^a
ALB	g/l	4,38 ± 1,06 ^a	3,71 ± 1,38 ^a	4,57 ± 0,98 ^a	4,43 ± 1,27 ^a	4,29 ± 1,60 ^a	4,29 ± 1,50 ^a
TAG	mmol/l	1,62 ± 0,33 ^a	1,56 ± 0,52 ^a	1,49 ± 0,33 ^a	1,61 ± 0,51 ^a	1,59 ± 0,24 ^a	1,53 ± 0,24 ^a
TP	g/l	35 ± 1,77 ^a	35,57 ± 1,51 ^a	35,71 ± 2,36 ^a	34,29 ± 3,35 ^a	35,86 ± 2,41 ^a	34,57 ± 2,57 ^a
ALT	μkat/l	0,44 ± 0,13 ^a	0,45 ± 0,16 ^a	0,43 ± 0,14 ^a	0,76 ± 0,23 ^b	0,76 ± 0,13 ^b	0,43 ± 0,13 ^a
AST	μkat/l	1,74 ± 0,30 ^a	1,77 ± 0,68 ^a	1,64 ± 0,38 ^a	3,18 ± 0,46 ^b	3,07 ± 0,48 ^b	1,76 ± 0,51 ^a
LDH	μkat/l	14,48 ± 0,86 ^a	15,14 ± 2,52 ^a	14,63 ± 1,96 ^a	18,27 ± 1,04 ^b	18,16 ± 0,80 ^b	14,36 ± 0,64 ^a
NH_3	μmol/l	264,38 ± 55,3 ^a	269,29 ± 45,29 ^a	249,14 ± 28,77 ^a	342,50 ± 22,21 ^b	356 ± 34,12 ^b	256,86 ± 30,25 ^a

*Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$. Tyto změny jsou pro lepší přehlednost zvýrazněny žlutou barvou.

Graf č.2 až č.5 - Grafické znázornění statisticky významných změn biochemických parametrů – ALT, AST, LDH a NH_3 . Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$





4.1.3 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

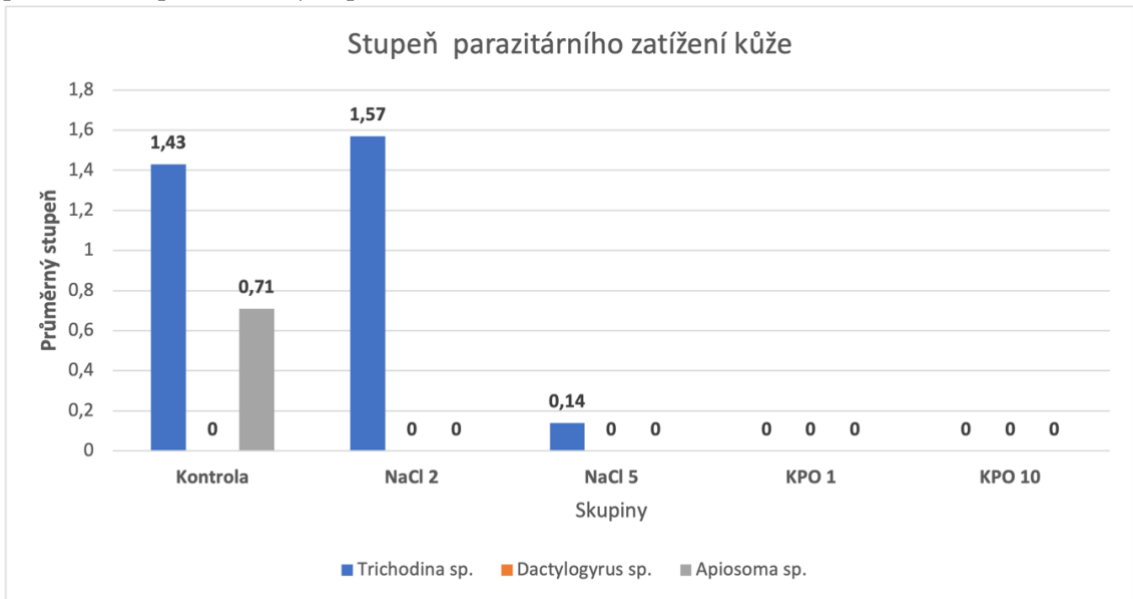
Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tabulce č.6. Z vyšetření ryb je patrný ojedinělý až vyšší nález parazitů *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp., a *Apiosoma* sp. v kontrolní skupině (Kontrola). Ve skupině NaCl 2 byl taktéž ojedinělý až větší nález parazitů *Trichodina* sp. (žábry i kůže) a *Dactylogyrus* sp. (žábry). U testované skupiny KPO 10 nebyl nalezen ve stěrech z kůže a žaber žádný parazit. Skupina KPO 1 pak lépe působila na *Trichodina* sp., která se v ani jednom odebraném vzorku nenalezla. Ojedinělý nález *Dactylogyrus* sp. byl k vidění ve vzorcích odebraných z žaberního aparátu. Velmi dobře se jevílo také použití vyšší koncentrace soli (5 g/l) ve skupině NaCl 5. V této skupině byl nalezen pouze jeden ojedinělý nález *Trichodina* sp. ve vzorku z kůže. Kladné výsledky z laboratorního experimentu bylo tak nutné vyzkoušet v praxi, při praktickém využití.

Tabulka č.7: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí (0-4) - laboratorní pokus

Skupina	Prevalence (%)		/ stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Apiosoma</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Dactylogyrus</i> sp.
K	71/1,4	57/0,7	86/1,0	57/0,9
NaCl 2	100/1,6	0/0	86/1,4	43/0,4
NaCl 5	14/0,1	0/0	0/0	0/0
KPO 10	0/0	0/0	0/0	0/0
KPO 1	0/0	0/0	0/0	43/0,4

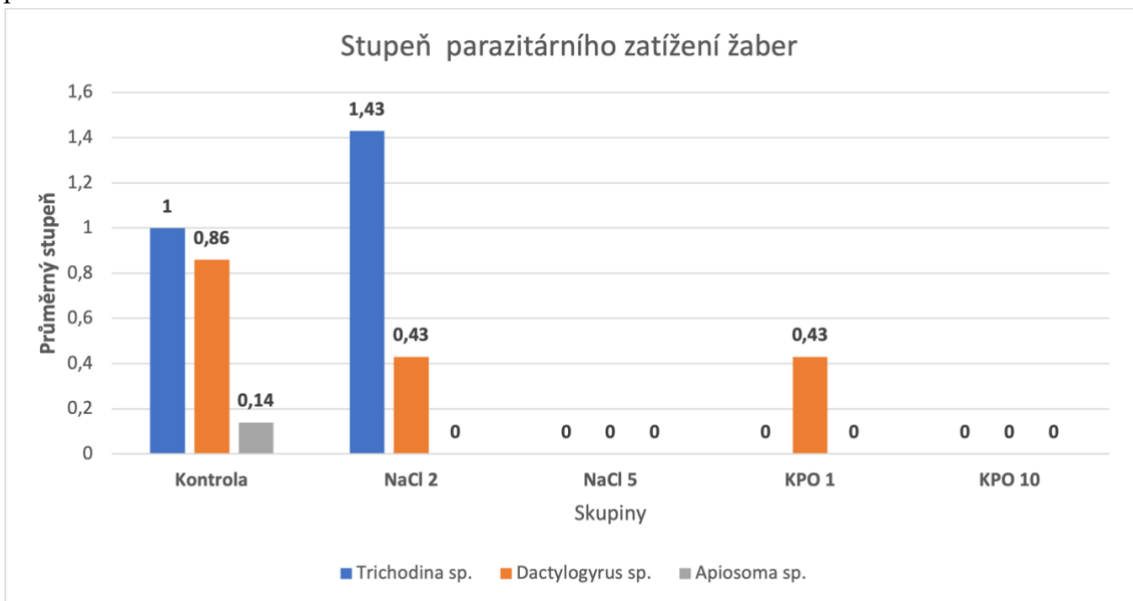
Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ je ve sloupcích zvýrazněn žlutou barvou.

Graf č.6 - Grafické znázornění průměrného stupně parazitárního zatížení na kůži v laboratorním experimentu u ryb ve skupinách NaCl 2, NaCl 5, KPO 10, KPO 1 a Kontrola. Čísla značí průměrné stupně nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Graf č.7 - Grafické znázornění průměrného stupně parazitárního zatížení na žaberním aparátu ryb ve skupinách NaCl 2, NaCl 5, KPO 10, KPO 1 a Kontrola. Čísla značí stupeň nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

4.1.4 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI VODY

Veškeré naměřené hodnoty jsou uvedeny v **kapitole 11**. V žádných aspektech nedošlo k výraznému výkyvu hodnot a experiment tak nebyl ovlivněn vlivem odlišných podmínek prostředí. U skupiny Kontrola však byla data zaznamenána až od 2.dne experimentu.

4.2 VÝSLEDKY PRAKTICKÝCH POKUSŮ

4.2.1 PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

V prvním praktickém pokusu (graf č. 8 a 9) byl patrný nízký nález parazitů *Trichodina* sp. ve všech testovaných skupinách, a to jak na kůži, tak na žaberním aparátu. Na žábrách u skupin KPO a NaCl byl determinován také menší nález *Gyrodactylus* sp. Stupeň parazitárního zatížení žaber u skupiny Kontrola (graf č. 9) je výrazně nižší, než u skupin KPO a NaCl.

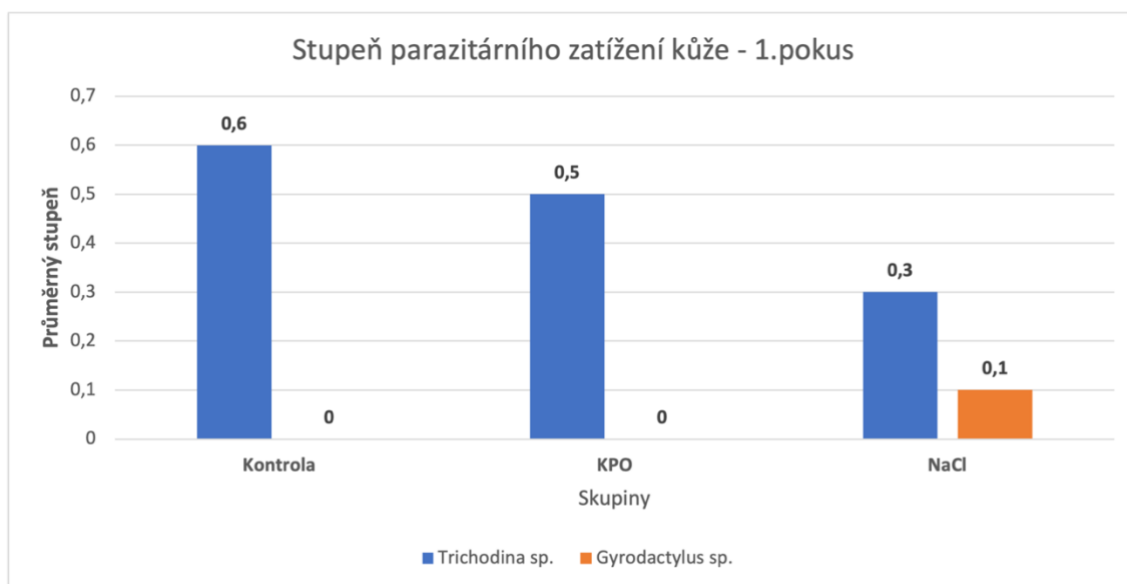
Ve druhém praktickém pokusu (graf č. 10 a 11) byl na kůži nalezen větší výskyt parazitů *Trichodina* sp. ve skupině Kontrola. Ojedinělý nález tohoto parazita byl patrný také u skupiny NaCl.

Téměř bez nálezu parazitů na kůži byla skupina KPO. Zde byl determinován pouze velmi nepatrný nález *Trichodina* sp. a současně nepatrný nález kožovce (*Ichthyophthirius multifiliis*).

Ve skupině Kontrola se ve vzorcích z žaberního aparátu našla celá řada parazitů – *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp., *Ichthyophthirius multifiliis* a *Epistylis* sp. Oproti tomu nebyl nalezen žádný zástupce *Trichodina* sp. ve skupině KPO. Ve všech skupinách byl však přítomen menší, ojedinělý nález parazitů *Dactylogyrus* sp.

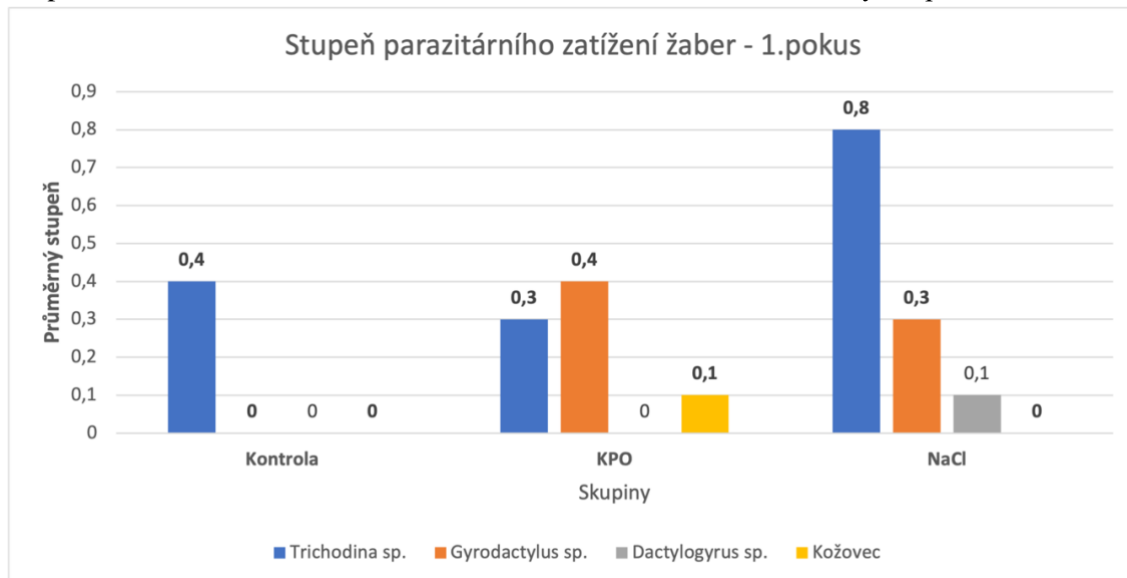
PRVNÍ POKUS

Graf č.8 – Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na kůži při 1. pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Čísla značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezů, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Graf č.9 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na žábách při 1. pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Čísla značí množství nalezených parazitů viz *.*.



*0 - bez nálezů, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

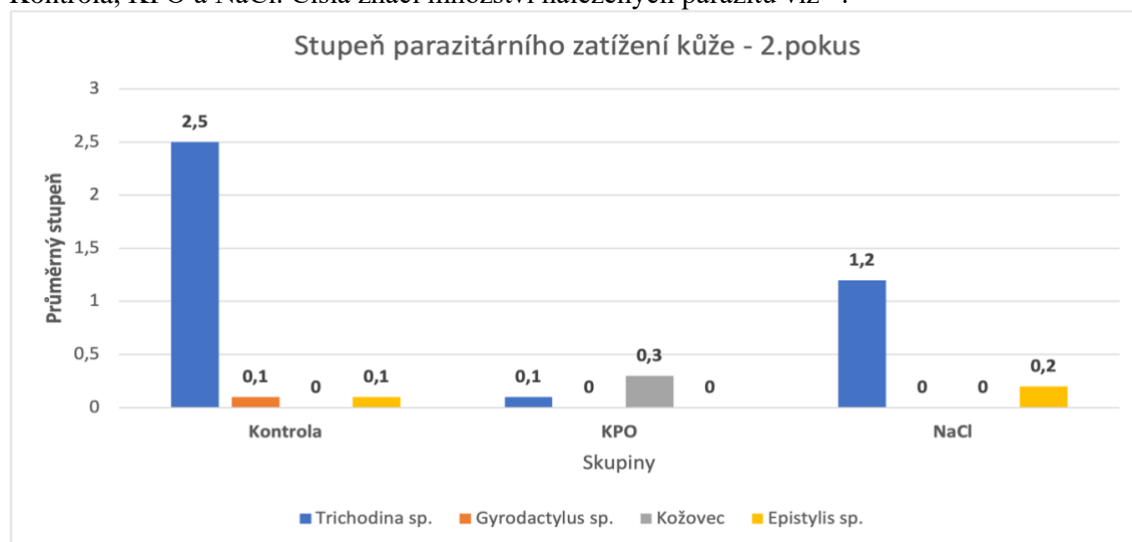
DRUHÝ POKUS

Tabulka č.8: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí (0-4) - 2. pokus.

Skupina	Prevalence (%)		stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Dactylogyrus</i> sp.
K	100/2,5	10/0,1	80/0,9	50/0,5
KPO	10/0,1	0/0	0/0	50/0,7
NaCl	70/1,2	0/0	50/0,7	30/0,4

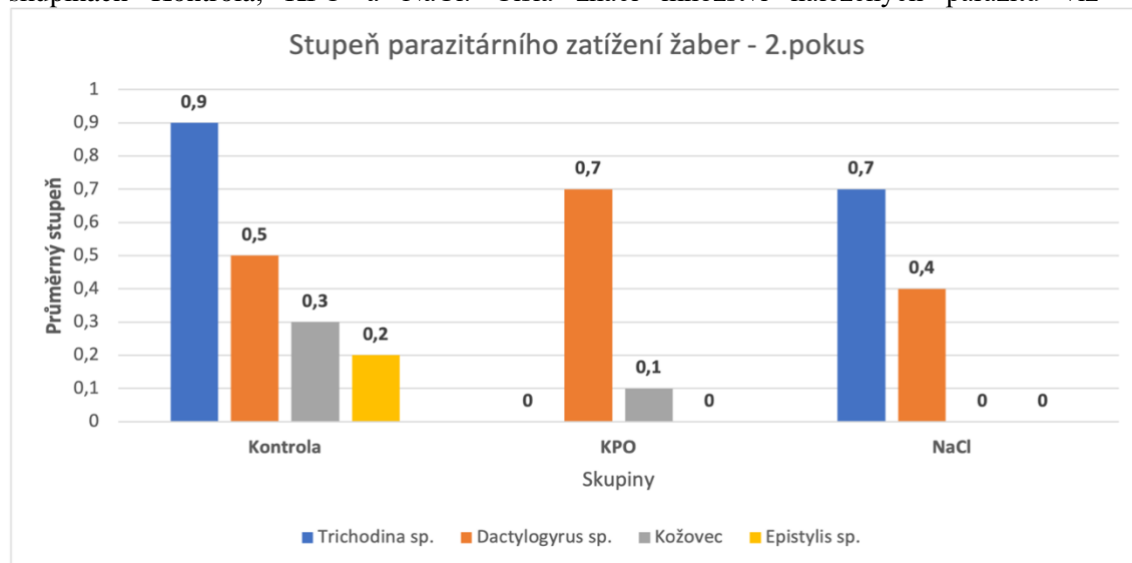
Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ je ve sloupcích zvýrazněn žlutou barvou.

Graf č.10 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na kůži při 2.pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Čísla značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezů, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Graf č.11 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na žábách při 2. pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Čísla značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezů, 1 - ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Ve třetím praktickém pokusu (graf č.12 a 13) je patrná vysoká prevalence parazitů v kontrolní skupině, ale také větší nález *Trichodina* sp. na kůži i žábrách ve skupině NaCl. Ve skupině KPO je vidět snížené množství nálezů všech skupin parazitů oproti jiným testovaným skupinám. V této skupině se v odebraných vzorcích vůbec nevyskytoval druh parazita *Gyrodactylus* sp., který byl však přítomný ve skupině NaCl a Kontrola.

Poslední, čtvrtý pokus provedený na tržních velikostech kapra obecného (*Cyprinus carpio*) při letních odlovech v zemních haltýřích na snížené hladině vody měl ověřit využití i u jiných věkových kategorií než u plůdku. V samotných výsledcích (graf č.14 a 15) lze potvrdit vysoká prevalence širokého spektra parazitů – *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp., Kožovec (*Ichthyophthirius multifiliis*), Kapřivec (*Argulus foliaceus*) a *Epistylis* sp. v kontrolní skupině. U skupiny NaCl se vyskytl větší nález parazitů *Trichodina* sp. ve vzorcích z kůže. U skupiny KPO byl nalezen ojedinělý nález parazitů skupiny *Trichodina* sp.

Doplňkový pokus se solným kvádrem přidaným do velkého saku společně s plůdkem zaznamenal vysoký nález parazitů *Trichodina* sp. (viz kapitola 11). Na žaberním aparátu byl pak nalezen ojedinělý nález parazitů druhu *Dactylogyrus* sp. Velmi ojediněle pak zastoupení *Epistylis* sp. jak na žaberním aparátu, tak kůži.

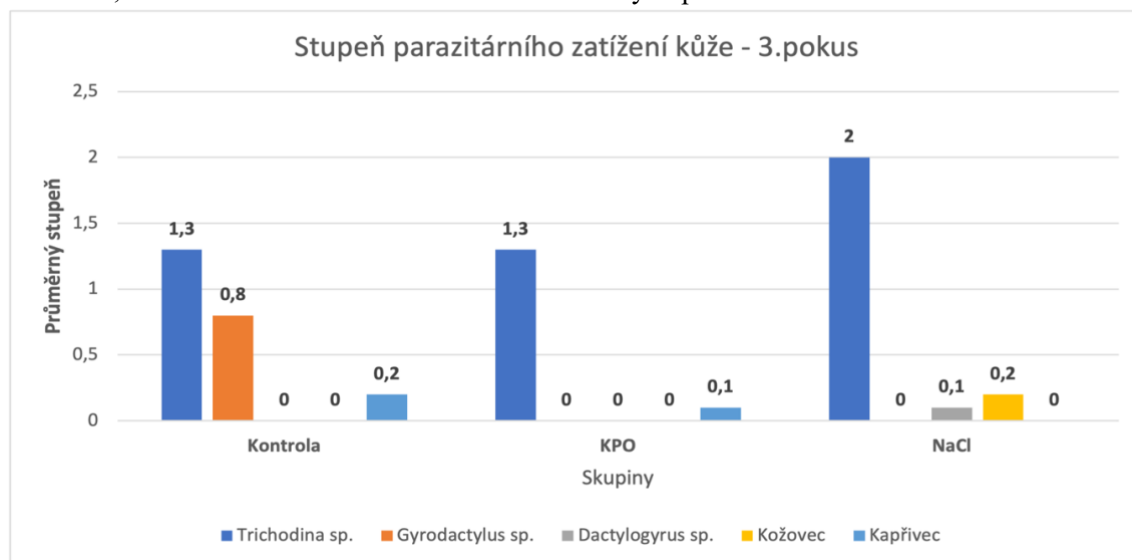
TŘETÍ POKUS

Tabulka č.9: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí (0-4) - 3.pokus

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)			
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Dactylogyrus</i> sp.
K	90/1,3	70/0,8	10/0,1	70/1,2
KPO	90/1,3	0/0	0/0	30/0,4
NaCl	100/2	0/0	80/1,1	60/0,6

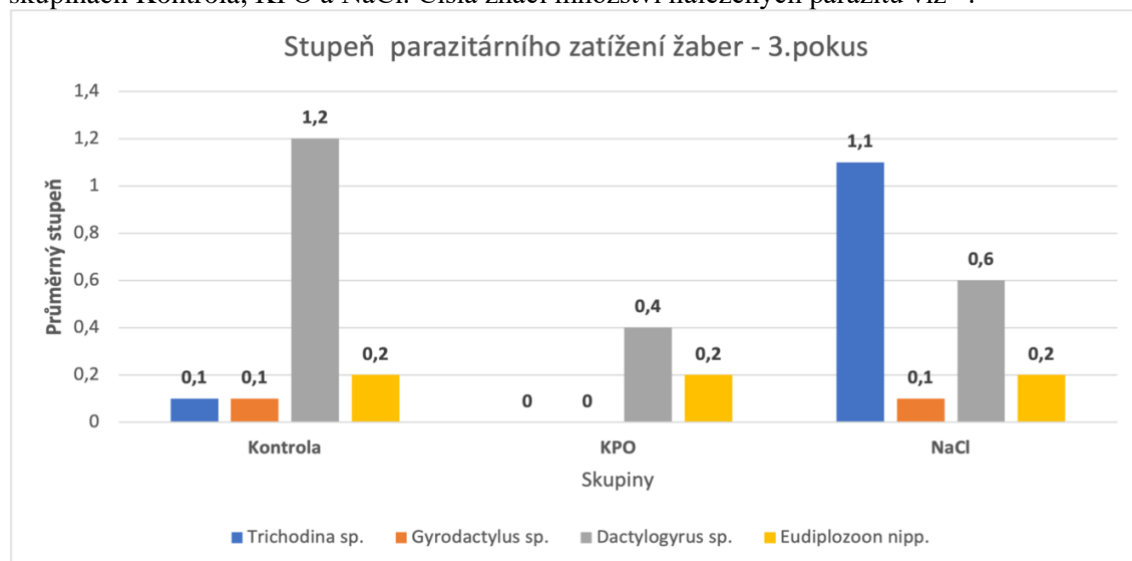
Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ je ve sloupcích zvýrazněn žlutou barvou.

Graf č.12 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na kůži při 3.pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Číslo značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1- ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Graf č.13 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na žábách při 3.pokusu ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Číslo značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1- ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

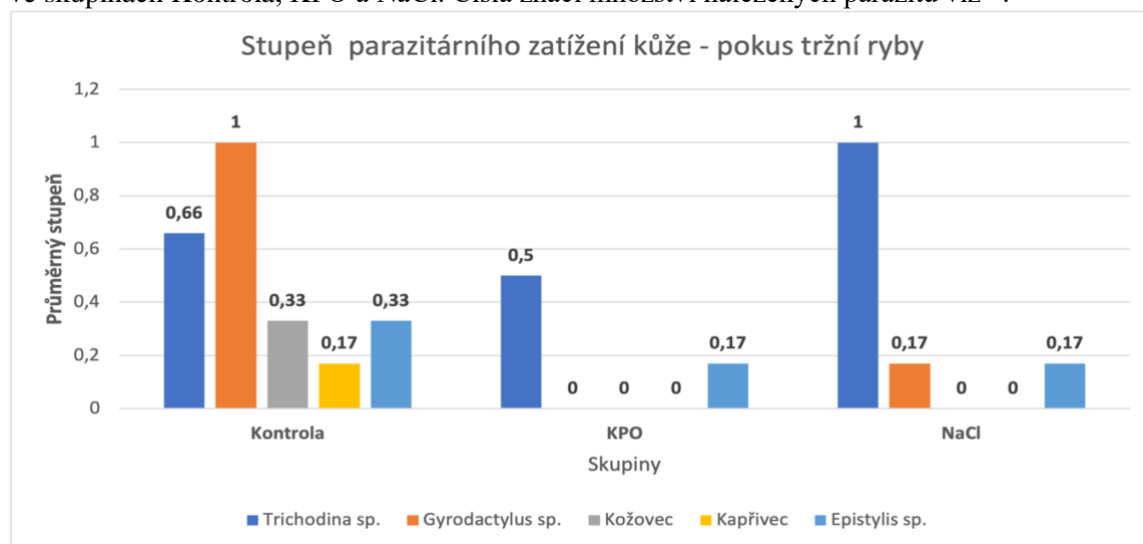
POKUS TRŽNÍ RYBY

Tabulka č.10: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí (0-4) - pokus tržní ryby

Skupina	Prevalence (%)		/ stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.
K	70/0,7	70/1	17/0,2	100/2
KPO	50/0,5	0/0	33/0,3	17/0,2
NaCl	100/1	17/0,2	83/1,7	70/1,2

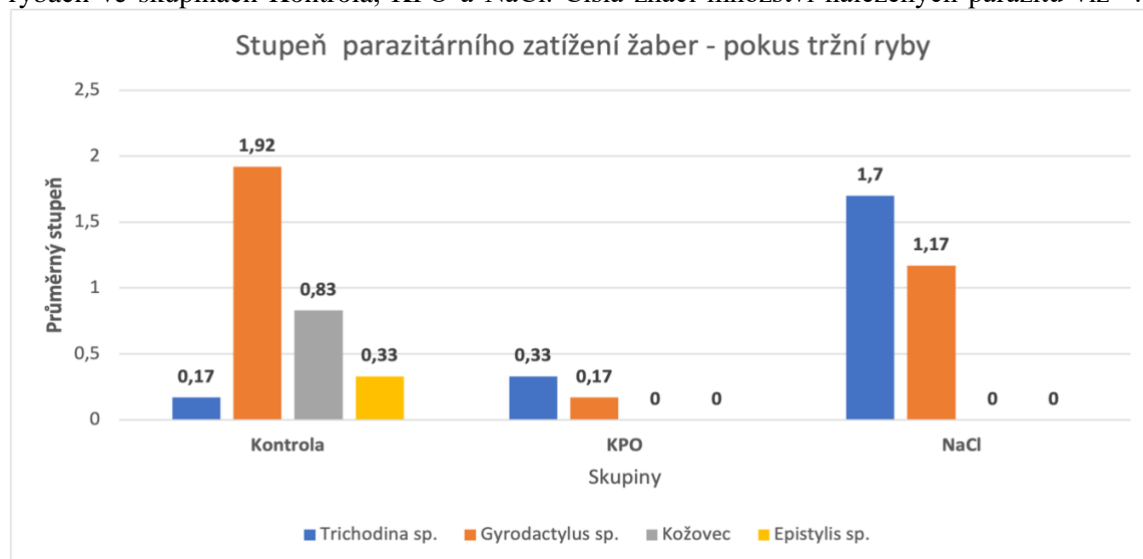
Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ je ve sloupcích zvýrazněn žlutou barvou.

Graf č.14 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení kůže v při pokusu na tržních rybách ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Číslo značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1- ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

Graf č.15 - Grafické znázornění stupně parazitárního zatížení na žábrách při pokusu na tržních rybách ve skupinách Kontrola, KPO a NaCl. Číslo značí množství nalezených parazitů viz *.



*0 - bez nálezu, 1- ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

5. DISKUZE

V průběhu laboratorních experimentů došlo hned k několika poznatkům. V první řadě je třeba vždy dbát na správné dávkování jakýchkoli přípravků pro ryby. V laboratorním experimentu došlo při aplikaci Persterilu 15 % (skupina KPO 10) k chybnému propočtu terapeutické koncentrace KPO a do akvária bylo omylem aplikováno desetinasobné množství. To vedlo k poškození ryb, které dospělo až k úhynu několika kusů testovaných jedinců. Problematikou a toxicitou na rybách při použití různých koncentrací KPO se ve své práci zabývá například Straus a kol. (2018), kteří provedli testy toxicity na dvanácti druzích ryb důležitých pro chov v akvakultuře, jako jsou například pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) nebo amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*). V práci uvádí, že nejstarší návrh na použití kyseliny peroctové (KPO) účinkující proti parazitům ryb navrhl Schäperclaus (1991). Dále výsledky jejich práce prokázali proměnlivou akutní toxicitu u různých druhů, která je úzce závislá na chemických vlastnostech vody, zejména na nižší alkalitě a tvrdosti vody. Zvýšená úmrtnost testovaných jedinců se vyskytovala ve vodách právě s nižšími hodnotami alkality. Při veškerých testech používali přípravek Vigor Ox SP-15 s obsahem 15% kyseliny peroctové. Složení tohoto přípravku je téměř totožné s přípravkem použitým v případě našich popsaných experimentů v části 3. Experimentální část. Straus a kol. (2018) ve své práci použili různé koncentrace od 1,9 do 14 mg/l KPO v závislosti na druhu testovaných ryb. Výsledné letální koncentrace KPO (LC50) stanovili na 4,25 mg/l u pstruha a 4,17 mg/l u amura. Podobné výsledky zaznamenala také Zusková (2014), která poukázala na srovnatelnou citlivost amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) a kapra obecného (*Cyprinus carpio*) vůči kyselině peroctové (96hLC50 KP = 4 mg/l). Na podkladě výsledků má KPO nízký terapeutický index, který vyjadřuje takzvané měřítko bezpečnosti léčiva (Terapeutický index je poměr mezi dávkou preparátu, která vyvolá léčebný účinek, k dávkě, která způsobí úhyn) (Zusková, 2014). Kitis (2004) uvádí, že i malá koncentrace KPO je velmi účinná proti širokému spektru mikroorganismů, díky schopnosti narušit prostřednictvím hydroxylových radikálů buněčné membrány. Je nutné zmínit, že ryby lze poškodit i nevhodnou aplikací NaCl. Al-Mahmood a kol. (2020) ve své práci popisují účinky vysokých koncentrací NaCl na ryby, které indukují degenerativní a nekrotické změny v oblasti žaberního aparátu jako jsou změny žaberních vláken s destrukcí cév nebo také hyperplazií sekundárních žaberních lamel, změn v krevním profilu a dalších patologických změn, které mohou vést až k úhynu ryb.

V závěru zmiňují, že krátkodobá koupel trvající 5 minut s koncentrací 100 g NaCl na 1000 l vody postačí na řádnou dezinfekci účinnou proti mnoha patogenům včetně plísňových infekcí. Takto nízká koncentrace se mi však zdá v provozních podmínkách neefektivní a přikláněl bych se spíše k jiným (vyšším) koncentracím. Jako ověřené a doporučené jsou podle Kolářové a Svobodové (2009) koupele s koncentrací 10 až 30 g/l NaCl po dobu trvání 15 až 30 minut, které lze u většiny druhů ryb opakovat dle potřeby. U ranných stádií plůdku (při teplotě vody 20-25 °C) je osvědčená 30minutová koupel s koncentrací 10 g/l NaCl. K ošetření slabšího plůdku kaprovitých ryb Kolářová a Svobodová (2009) doporučují koupele NaCl s koncentrací 20 g/l NaCl po dobu 15 minut.

Při přípravě koupele je však vždy nutné nejprve vypočítat přesnou dávku a následně jí dle správných postupů aplikovat tak, abychom předešli škodám na rybí obsádce. Použitím 2 a 5 g/l NaCl při laboratorním experimentu a 5 až 10 g/l v praktických pokusech jsme předešli takovému poškození testovaných ryb. Dle výsledků z praktických pokusů (graf č.8 až 15) lze tvrdit, že takto stanovené koncentrace nebyly příliš účinné na celou řadu parazitů, jakými jsou například jednobuněční protozoální parazité a ektomenzální nálevníci. Aplikace dávky 10 g/l NaCl však snižuje a zpomaluje rozvoj monogeneálních infekcí žaber a kůže, které způsobují *Gyrodactylus* sp. a *Dactylogyrus* sp. Možností, jak zvýšit účinnost NaCl by bylo výrazně zkrátit časový úsek koupelí a zvýšit koncentraci na 20 až 30 g/l tak, jak uvádí v metodice praktických návodů Kolářová a kol. (2016). Toto dávkování je závislé na druhu, kategorii ryb a popřípadě chemických vlastnostech vody.

Lehce nižší úspěšnost použití KPO proti parazitárním onemocněním v provozních podmínkách oproti laboratorním podmínkám můžeme přisoudit vlivu rozdílné kvality vody spolu s měnící se teplotou vody v průběhu ročního období. Zusková (2014) ve zpracovaném projektu uvádí, že je nutné při aplikaci kyseliny peroctové počítat s tím, že přítomnost organických látek, provzdušňování a kvalita vody úzce souvisí se stabilitou a rozkladem účinné KPO. V rámci projektu posuzovala také stabilitu KPO v přípravku Persteril ve vztahu k teplotě vody a organickému zatížení. Ve výsledcích uvádí, že v případě použití destilované vody při nižších teplotách je pokles koncentrace KPO řádově nižší, oproti použití rybníční vody, kde došlo v prvních 3 hodinách k poklesu koncentrace o 30 až 40 %.

I přesto, že se úspěšnost kyseliny peroctové proti parazitům v obou koncentracích při laboratorním pokusu jevila velmi dobře, v koncentraci 1 mg/l (skupina KPO 1) se objevila statisticky významná změna oproti kontrole při hematologickém vyšetření u hodnoty PCV – hematokritová hodnota (Tabulka č.4, Graf č.1). Svobodová a kol. (1991) uvádí, že se fyziologické hodnoty u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) pohybují v rozmezí 0,28-0,40 l/l. Chupani a kol. (2014) ve své práci zhodnocují vliv kyseliny peroctové na hematologické a biochemické ukazatele u testovaných juvenilních jedinců amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*). Při terapeutické koupeli po dobu 10 dnů využívali koncentrace 1 a 3 mg/l KPO, které do nádrží přidávali dvakrát denně. I přes jiný formát testu a vyšší použitou koncentraci KPO ve vodě ryby nevykazovali žádné statisticky významné rozdíly hematologických parametrů. Naproti tomu výsledky biochemických ukazatelů stejně jako v našem testu ukázali statisticky významné změny hned v několika parametrech. Ve srovnání s kontrolou se v práci Chupani a kol. (2014) zvýšilo množství AST (aspartátaminotransferáza), CK (kreatinkináza) a LDH (laktátdehydrogenáza) u skupiny vystavené 1 mg/l KPO dvakrát denně po dobu 10 dnů. Ve vyšší použité koncentraci 3 mg/l KPO zaznamenali vysokou mortalitu 71,5 %.

U biochemických parametrů se v našem laboratorním pokusu jednalo o zvýšení aktivity enzymů AST, LDH a ALT. Dále pak došlo k rozdílu koncentrace NH₃ (amoniak v plazmě) v porovnání s kontrolní skupinou (tabulka č.4 a graf č.2, 3, 4, 5) po aplikaci KPO 1 a 10 mg/l. De Pedro a kol., (2005) ve své práci připomínají, že hematologické a biochemické ukazatele vyšetřované krve poskytují spolehlivý odraz zdravotního stavu různých organismů včetně ryb. Proto je nezbytné tato vyšetření ryb provádět a vytvořit tak nové, co nejméně invazivní postupy aplikace antiparazitárních léčiv, které by se mohly zařadit do běžného provozu rybářských firem a předejít tak ztrátám na rybí obsádce.

Hodnotu PCV u kontrolní skupiny před pokusem mohli ovlivnit fyzikální vlastnosti vody, jako je například teplota. Sharma a Sukla (2021) ve své práci porovnávají vliv kolísání teploty na hematologické parametry u kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Během období s kolísající teplotou (testováno od ledna s nejnižší naměřenou teplotou 8,3 °C až do června s nejvyšší teplotou 22,6 °C) pozorovali výrazné změny hodnot všech parametrů krve. Náš pokus probíhal v období 7. až 15. prosince. Šest dní po odlovu z přirozeného prostředí se ryby aklimatizovaly na prostředí experimentu s průměrnou

teplotou ve skupině 14,4°C. Tudiž se díky změně teplot prostředí mohl změnit hematologický parametr PCV – hematokrit.

Lze tak konstatovat, že aplikační schéma skupin NaCl 2 (2 g/l), NaCl 5 (5 g/l), KPO 1 (1 mg/l) má nevýrazný, nebo minimální vliv na zdravotní stav kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a lze jej doporučit pro použití ve výše zmíněných koncentracích k léčbě. Jednorázová aplikace 10 mg/l KPO způsobila mortalitu, a tudíž je k léčbě nevyužitelná.

Zusková (2014) se ve své práci pilotního projektu o využití kyseliny peroctové mimo jiné zabývala preventivními koupelemi kapra obecného (*Cyprinus carpio*), stejně jako v našem experimentu. Výsledky naznačují významný pokles intenzity infekce způsobené parazity *Trichodina* sp. a *Apiosoma* sp. po aplikaci 1,5 mg/l KPO do přepravní bedny. Výrazný pokles parazitů *Trichodina* sp. po aplikaci KPO v podobě Persterilu 15 % můžeme potvrdit podle vyhodnocených dat z laboratorního experimentu. Ve skupině KPO 1 a KPO 10 s použitím 1 mg/l a 10 mg/l byl přípravek 100% úspěšný. V odebraných vzorcích z žebního aparátu byl prokázán pouze velmi ojedinělý nález *Dactylogyrus* sp. Velmi dobře se jevila také skupina s použitím 5 g/l NaCl, ve které bylo nalezeno jen velmi malé množství zastoupení *Trichodina* sp. Oproti kontrole se v ani jednom z testovaných skupin (NaCl 2, NaCl 5, KPO 1 a KPO 10) nevyskytoval žádný zástupce parazitů *Apiosoma* sp., i když i v kontrolní skupině bylo nalezeno pouze velmi malé množství těchto parazitů (graf č. 6 a 7). Z provedených laboratorních testů je patrná účinnost 5 g/l NaCl hlavně na vícebuněčné parazity žaber (*Dactylogyrus* sp.). Zajímavé výsledky přineslo také použití Persterilu 15 % u skupiny KPO 1 (1 mg/l), v jehož složení je zastoupena kyselina peroctová. Ta byla lépe účinná proti protozoálním parazitům *Apiosoma* sp. a *Trichodina* sp. Tyto výsledky však bylo nutné ověřit a potvrdit v praxi.

Z provedených praktických pokusů na sádkách v Rybářství Lnáře v Rožmitále pod Třemšínem nelze jednoznačně potvrdit vliv na jednobuněčné protozoální parazity a ektomenzální nálevníky u skupin s použitím NaCl. Nutno podotknout, že první test (graf č. 8 a 9) ovlivnilo špatně zvolené schéma experimentu. Proto je viditelná nízká prevalence parazitů ve skupině Kontrola. Kontrolní skupina byla totiž umístěná na začátek kaskády zemních haltýřů. To mohlo zkreslit výsledky testu, protože přitékající voda byla bohatá na přirozenou potravu a plankton. Výrazně to tak mohlo posílit obranyschopnost ryb v kontrolní skupině.

Po upravení schématu experimentu včetně zvýšení koncentrací účinných látek se provedl 2. praktický pokus. Z parazitologického vyšetření (graf č. 10 a 11) je už patrná vyšší prevalence parazitů v kontrolní skupině. Velmi dobře se jevila skupina KPO s použitou koncentrací 2 mg/l proti parazitům *Trichodina* sp. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ oproti kontrole byl dokázán v této skupině jak na kůži, tak na žaberním aparátu. Velmi silně dokázal v tomto případě potlačit rozšířenou infekci, která byla nalezena v kontrolní skupině. Statisticky významné změny byly nalezeny i na kůži při 3. testu prováděném na kapřím plůdku proti žábrolístu *Gyrodactylus* sp. při aplikaci stejné koncentrace KPO. Působení KPO na parazity druhu *Gyrodactylus* sp. se následně potvrdil i při testech na tržních rybách. Zde došlo ke statisticky významným změnám na hladině významnosti $P < 0,05$ oproti kontrole na žaberním aparátu právě u výše zmíněného parazita. KPO má prokazatelnou schopnost eliminace protozoálních parazitů *Trichodina* sp. a žábrolístů *Gyrodactylus* sp. Jelikož se poslední testy prováděly v měsíci červenci a září mohlo dojít z důvodu vyšší teploty vody k rychlejšímu rozkladu aktivních látek Persterilu a tím snížení koncentrace v prostředí. Na druhou stranu zvýšená teplota vody zvyšuje účinnost, ale také toxicitu léčebných prostředků vůči rybám. Proto se před každou léčebnou koupelí měří teplota vody (Kolářová a Svobodová, 2009).

Dalším možným faktorem některých nejasných výsledků může být organické znečištění vody a četné množství parazitárních organismů, které se vyskytují v přítokové vodě a tím mohlo dojít k reinfekci obsádky.

Při využití kyseliny peroctové v podobě Persterilu je nejlepší zvolit postup, jaký aplikovali Chupani a kol. (2014), a to aplikovat tuto látku k ošetřovaným rybám pravidelně v menších dávkách (např.: 2x denně) po delší časovou osu. Tím předejdeme snížení koncentrace účinné látky z důvodu rychlého rozkladu, ale i přesto využijeme benefity této látky a nezatížíme vodní prostředí. Kyselina peroctová totiž nezanechává rezidua v mase ryb, ani ve vodním prostředí a její dopad na životní prostředí je tak minimální (Kitis, 2004; Zusková a kol., 2011).

Doplňkový pokus se solným kvádrem přidaným do velkého saku společně s plůdkem můžeme vyhodnotit jako neúspěšný. V odebraných vzorcích z žaber a kůže byl determinován vysoký nález parazitů *Trichodina* sp. Na žaberním aparátu byl ojediněle nalezen parazit *Dactylogyrus* sp. Velmi ojediněle pak zastoupení *Epistylis* sp. jak na žaberním aparátu, tak kůži. Takto vysoká prevalence parazitů mohla být způsobena znemožněním ovlivnit koncentraci a dávkování soli do vodního prostředí. Dávku NaCl

ve vodě udávala jen schopnost rozpustnosti kvádrů, kterou mohly ovlivňovat fyzikálně-chemické vlastnosti vody a vlivy okolního prostředí.

6. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo posoudit účinnost profylaktických a léčebných koupelí chloridu sodného (NaCl) a kyseliny peroctové (C₂H₄O₃) na ektoparazity a posoudit jejich vliv na zdravotní stav kapra obecného (*Cyprinus carpio*) pomocí hematologického a biochemického vyšetření. Test antiparazitární léčby byl proveden formou léčebných koupelí s různými koncentracemi účinných látek KPO a NaCl jak v laboratorních, tak v přirozených podmínkách prostředí. Z původně testovaných 5 skupin (Kontrola, NaCl 2, NaCl 5, KPO 1 a KPO 10) byla skupina KPO 10 s koncentrací 10 mg/l KPO z důvodu mortality několika testovaných ryb označena za nepoužitelnou v praxi. Nadále však byly neuhynulé ryby z této skupiny hematologicky a biochemicky testovány.

Testem léčebných koupelí bylo (i přes nalezení statisticky významných změn) potvrzeno, že testovaná aplikační schémata mají minimální nebo žádný negativní vliv na zdravotní stav ryb z hlediska změn hematologických a biochemických parametrů. Hodnoty hematologických ukazatelů se u jednotlivých skupin nelišily. Jediný statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) byl zaznamenán u hematokritu (PCV), kde se lišila vstupní kontrolní skupina od skupiny KPO 1. Nižší hodnoty byly zaznamenány rovněž u hemoglobinu ve skupinách KPO 1 a KPO 10, kde ale snížení nebylo statisticky významné.

U skupin KPO 1 (1 mg/l) a KPO 10 (10 mg/l) byla vyhodnocena zvýšená aktivita enzymů LDH (Laktátdehydrogenáza), ALT (alaninaminotransferáza), AST (aspartátaminotransferáza) a NH₃ (amoniak v plazmě) v porovnání s kontrolami. Naměřené hodnoty naznačují možnou schopnost kyseliny peroctové ovlivňovat funkci jater. Naše enzymatické hodnoty vzrostly na 1,2 (pro LDH) až 2 (pro ALT a AST) násobek hodnot kontrolních skupin, což je pro týdenní použití KPO přijatelné a bezpečné.

Z laboratorních testů je patrná účinnost 5 g/l NaCl po dobu 8 dnů na vícebuněčné parazity žaber (*Dactylogyrus* sp.) a 1 mg/l KPO po dobu 8 dnů na protozoální parazity *Apiosoma* sp. a *Trichodina* sp.

U pokusů prováděných v provozních podmínkách na kapřím plůdku a tržních rybách byla prokázána statisticky významná schopnost eliminace protozoálních parazitů *Trichodina* sp. a žábrolístů *Gyrodactylus* sp. Z důvodu organického zatížení je však nutné aplikovat dvojnásobnou dávku kyseliny peroctové, než je potřeba v čisté vodě (např.: v laboratorních podmínkách). Aplikované dávky NaCl (10 g/l) snižují a zpomalují rozvoj monogeneálních infekcí žaber a kůže, které způsobují rody *Gyrodactylus* sp. a *Dactylogyrus* sp. Není však patrný žádný vliv na jednobuněčné protozoální parazity a ektomenzální nálevníky.

Je nutné dále pokračovat ve vytváření vhodných technologických postupů tak, aby se neinvazivní léčiva zařadila do stávajících chovných postupů a využil se tak jejich vysoký potenciál a bezpečnost jak z hlediska kumulace nežádoucích látek v mase konzumních druhů ryb, tak z hlediska ochrany zdraví ryb a nezávadnosti jejich chovného prostředí.

7. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

ABDULLAH, S., ABDULLAH, A. a SHWANI, A., (2010), *Ectoparasites of the asian catfish *Silurus triostegus* (Heckel, 1843) from grater zab river – Kurdistan region – Iraq. J. Duhok Univ. (Special Issue)*. 13, 164-171s.

AL-MAHMOOD, S. S., MOHAMEMED, A. M. et al., (2020), *Pathological lesions of acute sodium chloride toxicity in common carp: Case report*. Department of Pathology and Poultry Diseases, College of Veterinary Medicine, Unniversity of Mosul, Mosul , Al-Anbar, Iraq, 417-419s.

ALASRI A., ROQUES C. et al., (1992), *Bactericidal properties of peracetic-acid and hydrogen-peroxide, alone and in combination, and chlorine and formaldehyde against bacterial wastewater*. Canadian Journal of Microbiology, 38, 635-642s.

ALY, S., FATHI, M., YOUSSEF, E.M., MABROK, M., (2020), *Trichodinids and monogeneans infestation among Nile tilapia hatcheries in Egypt: prevalence, therapeutic and prophylactic treatments*, Aquaculture international 28 (5).

ANDERSON, N.A., LAURSEN, J.S., LYKKEBOE, G., (1985), *Seasonal variations in hematocrit, red cell hemoglobin and nucleoside triphosphate concentrations in the European eel *Anguilla anguilla**. Comparative Biochemistry and Physiology, 81 A, 87-92. Dostupné z: doi: 10.1016/0300-9629(85)90271-3.

ARTHANARI, M., DHANAPALAN, S., (2016), *Assessment of the haematological and serum biochemical parameters of three commercially important freshwater fishes in river Cauvery Velur, Namakkal district, Tamil Nadu, India*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 4(1), 155–159s.

BALDRY, M. G. C., (1983), *The bactericidal, fungicidal, and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid*. *J Appl Bacteriol*, 54, 417-2s.

BARUŠ, V. a OLIVA, O., (1995), *Fauna ČR a SR. Mihulovci Petromyzontes a ryby Osteichthyes (2)*. Academia, Praha, 698 s. ISBN 0430 – 120s.

BRACELAND, M., HOUSTON, K., ASHBY, A. a C. MATTHEWS, (2017), *Technical pre-analytical effects on the clinical biochemistry of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)*. Journal of Fish Diseases, 40(1), 29-40s.

BURTON, M. B., (1994), *Monogenean Diseases*, Department of Zoology College of Biological Science University of Guelph Guelph, Ontario N1G 2W1 Canada

CARRASCHI, S.P., FLORENCIO, T., IGNÁCIO, N.F., IKEFUTI, C.V., CRUZ, C., RANZANI-PAIVA, M.J.T., (2017), *Hematological and histopathological assessment of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after treatment of pathogens with veterinary medicinal products*, *Comp. Clin. Path.*, 26, 105-114s.

ČÍTEK, J., KRUPAUER, V. a F. KUBŮ, (1998), *Rybníkářství*. Informatorium, Praha. ISBN 80-86073-37-8.

- DE PEDRO, N., GUIJARRO, A.I., LÓPEZ-PATIÑO M.A., MARTINEZ-ALVAREZ, R., DELGADO, M.J.,(2005), *Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, Tinca tinca (Linnaeus, 1758)*, Aquaculture Research 36, 1185–1196s.
- DOUBEK, J. a kol., (2003), *Veterinární hematologie*. Noviko a.s., Brno. ISBN 80-86542-02-5.
- DUBANSKÝ, V. a Z. SVOBODOVÁ, (1995), *Krev ryb*. Veterinářství, 52, 69-71s.
- DUBSKÝ, K., V. ŠRÁMEK a J. KOUŘIL, (2003), *Obecné rybářství*. Praha: Informatorium. ISBN 80-733-3019-9.
- DUNGEL, J. a Z. ŘEHÁK, (2005), *Atlas ryb, obojživelníků a plazů v České a Slovenské republice*. Academia, Praha. ISBN 80-200-1282-6.
- DURANTE, P. (1999). *Průručka rybáře*. Příroda a.s., Bratislava. ISBN 80-07-01103-X.
- EIRAS J. C. a H. SEGNER. et al., (2008), *Fish diseases*. Science Publisher, Enfield, Volume 1, 612s,
- ERGENS, R. a J. LOM, (1970), *Původci parazitálních nemocí ryb*. Praha: Academia, fishes. Acta Sc. Nat. Brno 31, 1-70s.
- GEHR, R., COCHRANE D. a M. FRENCH, (2002), *Peracetic Acid (PAA) as a disinfectant for municipal wastewaters: Encouraging performance results from physicochemical as well as biological effluents*, 17-20. Dostupné z: doi.10.2175/193864702785033527
- GELA, D., KOCOUR, M. a M. FLAJSŠANS et al., (2009), *Technologie řízené reprodukce kapra obecného (Cyprinus carpio L.)*. Edice metodik. Technologická řada (99). FROV JU, Vodňany. ISBN 978-80-85887-99- 0.
- GENTEN, F., TERWINGHE, E., DANGUY, A., (2009), *Atlas of Fish Histology*. Science Publishers, Enfield, NH, USA. 47-56. ISBN 9780367803599.
- GREENWELL, M.G., SHERILL, J. a L. A. CLAYTON, (2003), *Osmoregulation in fish. Mechanisms and clinical implications. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animals Practice*, 6(1), 169-189. Dostupné z: doi: 10.1016/s1094-9194(02)00021-x.
- HANEL, L. a S. LUSK, (2005), *Ryby a mihule České republiky: rošíření a ochrana = Fishes and lampreys of the Czech republic : distribution and conservation*. Český svaz ochránců přírody Vlašim. ISBN 80-86327-49-3.
- HAZEL, J. R., (1993), *Thermal biology*. In: Evans, D.H. (Ed.), *The Physiology of Fishes*. CRC Press, 1st edition.
- HERA, A., ŠIMŮNEK, J. a J. BUREŠ, (2004), *Sjednocení formy veterinárních receptů a souhlasu s neregistrovaným použitím léčivého přípravku*. Veterinářství, 4, 243-244s.
- HERSHBERGER, P., (2014), *Ichthyophonus disease (Ichthyophoniasis)*. In: Thoesen, J. C. (Ed.) *Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens Blue Book*. Western Fisheries Research Center, chapter 3. 2. 18. ISBN 9780962550522.

HOFFMAN, G. L. a F. P. MEYER, (1974), *Parasites of freshwater fishes*. A review of their control and treatment. *Cabi* [online]. [cit. 2022-04-25]. Dostupné z: <https://www.cabi.org/isc/abstract/19740810095>

HOOLE, D., BUCKE, D., BURGESS, P., WELBY, I., (2001), *Diseases of Carp and Other Cyprinid Fishes*, Sparks Computer Solutions Ltd., Oxford 2001, 79-83s.

HULE, M., (2003), *Rybníkářství na Třeboňsku*. Historický průvodce. Třeboň.

CHERNYAVSKIKH, S.D., BORODAEVA, Z.A., BORISOVSKIY, I.P., OSTAPENKO, S.I., GALTSEVA, O.A., (2019), *Blood protein spectrum in representatives of the fish superclass*, *Eurasia J Biosci* 13: 979-981s.

CHUPANI, L., STARÁ, A. a J. VELÍŠEK, (2014), *Evaluation of the toxic effect of peracetic acid on grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) juveniles*. Center of Aquaculture and Biodiversity of Hydroconoses, Research. Czech Republic: University of South Bohemia in České Budějovice, 35, 86-92s.

IKEFUTI, C.V., CARRASCHI, S.P., BARBUIO, R., DA CRUZ, C., DE PÁDAU, S.B., ONAKA, E.M., RANZANI-PAIVA, M.J.T., (2015), *Teflubenzuron as a tool for control of trichodinids in freshwater fish: acute toxicity and in vivo efficacy* *Exp. Parasitol.*, 154, 108-112s.

ISAKSEN, T. E., (2013), *Ichtyobodo infections on farmed and wild fish - Methods for detection and identification of Ichtyobodo spp.* *Researchgate*. Dostupné z: doi:10.13140/RG.2.2.17341.51680

IVANOV, A.A., (2003), *Fiziologiya ryb.*, Mir, 284. (In Russian), <https://doi.org/10.1023/A:1024045704186>

JONÁŠ, J., LÉGL, M. a J. KUCHAR, (2016), *Pozor, sůl!: Proč konzumujeme příliš mnoho soli, jak škodí našemu zdraví a co s tím můžeme dělat*. Praha: Eminent. ISBN 978-80-7281-504-3.

JUSSILA J., MAKKONEN, J. a H. KOKKO, (2011), *Peracetic acid (PAA) treatment is an effective disinfectant against crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) spores in aquaculture*. *Aquaculture*, 320(1-2), 37-42. Dostupné z: doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.008

KAYIS, S., AKIF, E., FIKRI, B., (2015), *Comparison of Formalin Treatment on the Çoruh Trout (*Salmo coruhensis*) Infested with *Ichthyobodo Necator* and *Ichthyophthirius multifiliis*.*, *El-Cezeri Journal of Science and Engineering*. 2., 47-52s.

KITIS, M., (2004), *Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review*. *Environment International*, 30(1), 47-55. Dostupné z: doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8

KLONTZ, G. W. a L. S. SMITH, (1968), *Methods of using fish biological research subjects*. In: *Methods of animal experimentation* (Ed. Gay, W.R.) London: Academic Press.

KNUDSEN, A. R., ANDERSEN, K. J., HAMILTON-DUTOIT, S. et al., (2016), *Correlation between liver cell necrosis and circulating alanine aminotransferase after ischaemia/reperfusion injuries in the rat liver.*, *International Journal of Experimental Pathology*, 97(2), 133-138s.

KOLÁŘOVÁ, J. a J. VELÍŠEK, (2012), *Stanovení a vyhodnocení biochemického profilu krve ryb*. *Edice metodik*, FROV JU, Vodňany, 135, 54s.

KOLÁŘOVÁ, J. a L. NEPEJCHALOVÁ, (2006), *Testování veterinárních léčivých přípravků pro ryby podle norem EU*. Veterinářství, 1, 31-34s.

KOLÁŘOVÁ, J. a L. NEPEJCHALOVÁ, (2007), *Zásady a možnosti léčby v chovech ryb ČR*. Veterinářství, 2, 115-118s.

KOLÁŘOVÁ, J. a L. NEPEJCHALOVÁ, (2014), *Terapeutické možnosti v chovech ryb ČR – přehled*. Veterinářství, 64(2), 532-537s.

KOLÁŘOVÁ, J. a L. NEPEJCHALOVÁ, (2015), *Možnosti léčby parazitóz v chovech ryb v ČR*. Seminář Ochrana zdraví ryb, FROV JU Vodňany, s. 70-71s.

KOLÁŘOVÁ, J. a Z. SVOBODOVÁ, (2009), *Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb*. Edice metodik, VÚRH JU Vodňany, 30s.

KOLÁŘOVÁ, J., ZUSKOVÁ, E., STEINBACH, C., a J. VELÍŠEK, (2016), *Praktické návody k provádění vyšetřovacích a léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb*. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 166, 36s.

KOLÁŘOVÁ, J., ZUSKOVÁ, E., STEINBACH, CH. a J. VELÍŠEK, (2017), *Praktické návody k provádění vyšetřovacích a léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb*. Edice metodik, FROV JU, Vodňany.

KOUŘIL, J., SVOBODOVÁ, Z., VYKUSOVÁ, B. a J. HAMÁČKOVÁ, J., (1984), *Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce*. Edice Metodik, VÚRH Vodňany, 15, s. 2-7s.

KRUPAUER, V. a F. KUBŮ, (1985), *Kapr obecný*. Český rybářský svaz, Praha. In: KÜHNER, S., TAIZ, L. SIMAO, L., LÚCIA, S., SAFI, L., FERNANDA, B., GAZULDA, EDUARDO, E., LAURA, R. P. UTZ, (2015), *Epistylis portoalegrensis* n. sp. (Ciliophora, Peritrichia): A New Freshwater Ciliate Species from Southern Brazil

LI, M., WANG, J., ZHU, D., GU, Z., ZHANG, J., GONG, X., (2008). *Study of Apiosoma piscicola (Blanchard 1885) occurring on fry of freshwater fishes in Hongze, China with consideration of the genus Apiosoma*. Parasitology research. 102. 931-7. 10.1007/s00436-007-0856-5.

LI, M., WANG, R., BASTOS GOMES, G., ZOU, H., LI, W.X., WU, S.G., ..., PONCE – GORDO, F., (2018), *Epidemiology and identification of two species of Chilodonella affecting farmed fishes in China*, Vet. Parasitol., 264, 8-17s.

Liberti L., Lopez A., Notarnicola M. 1999: Disinfection with peracetic acid for domestic sewage reuse in agriculture. *IWEMJ*, 13, 262-9.

LIBERTI, L., LOPEZ, A., NOTARNICOLA, M., (1999), *Disinfection with peracetic acid for domestic sewage reuse in agriculture.*, *IWEMJ* 13, 262–269s.

LINNAEUS, C., (1758), *Systema nature per regna tria nature, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Thomasi, Ed. Decima.

LIU, D., PEDERSEN, L.F., STRAUS, D.L., KLOAS, W., MEINELT, T., (2017), *Alternative prophylaxis/disinfection in aquaculture-adaptable stress induced by peracetic acid at low concentration and its application strategy in RAS*, *Aquaculture*, 474, 82-85s.

LOM J. a I. DYKOVÁ, (1992), *Protozoan parasites of fishes*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. ISBN neuvedeno.

LUCKÝ, Z. (1986), *Choroby chovných ryb*, Praha: Státní pedagogické nakladatelství. ISBN neuvedeno.

LUCKÝ, Z., (1986), *Péče o zdraví a prevence chorob ryb*. Ministerstvo zemědělství a výživy ČR ve spolupráci s ÚV ČRS. Praha. ISBN neuvedeno.

LUSK, S., BARUŠ, V. a J. VOSTRADOVSKÝ, (1992), *Ryby v našich vodách*. 2.vyd., Academia, Praha. ISBN 80-200-0231-6.

LUSKOVÁ, V., (1996), *Annual cycles and normal values of hematological parameters in fishes*, *Acta Sc. Nat. Brno* 31, 1-70s.

MARCHAND, P. A., PHAN, T. M., STRAUS, D. L. et al., (2012), *Reduction of in vitro growth in Flavobacterium columnare and Saprolegnia parasitica by products containing peracetic acid*. *Aquaculture Research*, 43, 1861–1866s.

MASOPUST, J., (2000). *Klinická biochemie: Požadování a hodnocení biochemických vyšetření*. Praha: Karolinum. ISBN 80-718-4650-3.

MATHIESSEN, H., MARANA, M.H., KORBUT, R., WU, B., AL-JUBURY, A., KARAMI, A.M., KANIA, P.W., BUCHMANN, K., (2021), *Inflammatory reactions in rainbow trout fins and gills exposed to biocides*, *Dis. Aquat. Org.*, 146, 9-21s.

MEIRA-FILHO, M.R.C., RAMIREZ, J.R.B., VIANNA, R.T., JÚNIOR, J.P., (2017), *Efficacy of glacial acetic acid in the control of Trichodina sp. and Apiosoma sp. associated with, Mugil liza*, *Aquaculture*, 479, 7-12s.

MOLNÁR, K., SZÉKELY, C., LÁNG, M., (2019), *FAO Fisheries and Aquaculture Circular SEC/C1182 (En) Field guide to warmwater fish diseases in central and eastern Europe, THE CAUCASUS AND CENTRAL ASIA*.

MONARCA S., RICHARDSON, S. D., FERETTI, D. et al., (2002), *Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid*. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 309-318s.

MRL , (2018), *Bezpečnost potravin* [online]. [cit. 2022-04-25]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92527.aspx>

Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 470/2009 ze dne 6. května 2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu.

Nařízení komise (EU) č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu.

NAVRÁTIL, S., SVOBODOVÁ, Z. a Z. LUCKÝ, (2000), *Choroby ryb*, VFU Brno. ISBN 8085114925.

NOGA, E. J., (1996), *Fish diseases*. Mosby-Year Book Inc., St. Louis. ISBN 978-0813806976.

NOGA, E. J., (2010), *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*, 2nd edition. Blackwell Publishing, Iowa. ISBN 0813806976.

NOVOTNÝ, E., BÖHM, R., GEISSEL, V. et al., (1966), *Veterinární histologie*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. ISBN 9780781774598.

PACENTI, M., DUGHERI, S., BOCCALON, P., ARCANGELI, G., DOLARA, P., CAPALLI, V., (2010), *Air monitoring and assessment of occupational exposure to peracetic acid in a hospital environment*, *Ind. Health* 48, 217–221s.

PALÍKOVÁ, M., PIAČKOVÁ, V., NAVRÁTIL S., et al. (2019), *Nemoci a chorobné stavy ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. ISBN isbn978-80-7514-085-2.

PEDERSEN L. F., PEDERSEN P. B. a O. SORTKJAER, (2007), *Temperature-dependent and surface specific formaldehyde degradation in submerged biofilters*. *Aquacultural Engineering*, 36, 127-136s.

PEDERSEN, L.F., PEDERSEN, P.B., NIELSEN, J.L., NIELSEN, P.H., (2010), *Long term/low dose formalin exposure to small-scale recirculation aquaculture systems*, *Aquacultural Engineering* 42, 1–7s.

PEDERSEN, L.F., PEDERSEN, P.B., NIELSEN, J.L., NIELSEN, P.H., (2009), *Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems*. *Aquaculture* 296, 246–254s.

PIAČKOVÁ, V., PALÍKOVÁ, M., ZUSKOVÁ, E. et al., (2014), *Stanovení diferenciálního počtu leukocytů ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.

PIVNIČKA, K. a K. ČERNÝ, (1998), *Das grosse Naturlexikon Fische*. Karl Müller, Erlangen. ISBN 3-86070-872-4.

POKORNÝ, J., FLAJŠHANS, M., HARTVICH, P. et al., (1995), *Atlas kaprů chovaných v České republice*. Victoria Publishing, Praha. ISBN 80-7187-005-6.

POLAKOF, S., PANSEERAT, S., SOENGAS, J. L. et al., (2012), *Glucose metabolism in fish: a review*. *Journal of Comparative Physiology*, 82(8), 1015– 1045s.

PRAVDA, D. a Z. SVOBODOVÁ. *Hematologie ryb*. Odd. 10. In. DOUBEK, J. et al., (2003), *Veterinární hematologie*. Brno: Noviko. ISBN 8086542025.

RACH, J.J., GAIKOWSKI, M.P., OLSON, J.J., (1997), *Importance of analytically verifying chemical treatments*, *Progressive Fish-Culturist* 59, 222–228s.

SAMPATH, H. a M. RAMESH MANAVALARAMANUJAM, (2002), *Responses of plasma transaminase activity in Cyprinus carpio var. communis to mercury toxicity*. Journal of the Indian Fisheries Association, 29, 7-13s.

SEBASTIAO, F. A. D., R. NOMURA a F. PILARSKI, (2011), *Haematology and reproductive performance of nile tilapia (Oreochromis niloticus) naturally infected with Flavobacterium columnare*. Braz J Microbiol, (42), 282-289s.

SHARMA M. a P. SHUKLA, (2021), *Impact of temperature variation on hematological parameters in fish Cyprinus carpio*, Journal of Entomology and Zoology Studies, 9(2), 134-136s.

SCHÄPERCLAUS, W., (1991), *Prophylaxis and therapy of fish diseases*. In SCHÄPERCLAUS W., KULOW H., and SCHRECKENBACH K. Fish diseases, 1(5), Published for the US Department of the Interior and National Science Foundation, Washington DC.

SMITH, Ch. G., W. M. LEWIS a H. M. KAPLAN, (1952), *A Comparative Morphologic and Physiologic Study of Fish Blood*. *The Progressive Fish-Culturist*, 14(4), 169s.

SMUTNÁ, M., VORLOVÁ, L. a Z. SVOBODOVÁ, Z. (2002), *Pathobiochemistry of Ammonia in the Internal Environment of Fish (Review)*. Acta Veterinaria Brno, 71(2), 169-181s.

SOLENG, M., JOHANSEN, L.H., JOHNSEN, H., JOHANSSON, G.S., BREILAND., M.W., ROMARK, L., LAZADO, C.C., (2019), *Atlantic salmon (Salmo salar) mounts systemic and mucosal stress responses to peracetic acid*, Fish Shellfish Immunol., 93, 895-903s.

STOSKOPF, M. K. (1993), *Clinical Pathology in Fish Medicine*. WB Saunders Company, New York, USA. ISBN neuvedeno.

STRAUS D. L., MEINELT T., LIU D. et al., (2018), *Toxicity of Peracetic Acid to Fish: Variation among Species and Impact of Water Chemistry*. Journal of the world aquaculture society, 49(4), 715-724s.

STRAUS, D.L., MEINELT, T., FARMER B.D., MITCHELL, A.J., (2012), *Peracetic acid is effective for controlling fungus on channel catfish eggs*, J. Fish Dis., 35 (7), 505-511s.

SVOBODA, M., LUSKOVÁ, V., DRASTICHOVÁ, J. et al., (2001), *The Effect of Diazinon on Haematological Indices of Common Carp (Cyprinus carpio L)*. Acta Vet. Brno, 70, 457-465s.

SVOBODOVÁ Z., KOLÁŘOVÁ J., NAVRÁTIL S. et al., (2007), *Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb*. Informatorium, Praha. ISBN 80-86073-32-7.

SVOBODOVÁ, Z., (2007), *Neinfekční nemoci*. Odd. 7. In: SVOBODOVÁ, Z. et al. (2007a). *Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb*. 4. vyd., přeprac. Praha: Informatorium.

SVOBODOVÁ, Z., (2019), *Poškození ryb amoniakem*. In: PALÍKOVÁ, M. (Ed.), *Nemoci a chorobné stavy ryb*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany.

SVOBODOVÁ, Z., D. PRAVDA a H. MODRÁ, (2012), Metody hematologického vyšetřování ryb. *Fakulta rybářství a ochrany vod* [online]. [cit. 2022-04-25]. Dostupné z: https://www.frov.jcu.cz/images/FROV/veda-a-vyzkum/metodiky/122_MET.pdf

SVOBODOVÁ, Z., D. PRAVDA a J. PALÁČKOVÁ, (1991), *Unified methods of haematological examination of fish*. Vodňany: Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology.

SVOBODOVÁ, Z., PRAVDA, D., PALÁČKOVÁ, J., (1986), *Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb*. Edice metodik VÚRH ve Vodňanech, Vodňany, 36s.

SYAHPUTRA, K., KANIA, P.W., AL-JUBURY, A., MARNIS, H., SETYAWAN, A.C., BUCHMANN, K., (2019), *Differential immune gene response in gills, skin, and spleen of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* infected by *Ichthyophthirius multifiliis**, PLoS One, 14 (6), 1-14s.

TANG, F., (2013), *Record of three new Trichodina species (Protozoa, Ciliophora) parasitic on gills of freshwater fishes from Chongqing, China*, Key Laboratory of Animal Biology of Chongqing, College of Life Science, Chongqing Normal University.

TAVARES-DIAS, M., (2021), *Toxic, physiological, histomorphological, growth performance and antiparasitic effects of copper sulphate in fish aquaculture*, Aquaculture, 535, Article 736350.

TAVE, D., (1986), *Genetics for fish hatchery managers*. AVI Publishing Co., Westport. ISBN 0-87055-532-4.

VALIGUROVÁ, A., HODOVÁ, I., SONNEK, R., KOUBKOVÁ, B., GELNER., M. (2011), *Eudiplozoon nipponicum* in focus: monogenean exhibiting a highly specialised adaptation for ectoparasitic lifestyle. *Parasitol Res.*;108(2), 383–94s.

VILLARINI M., MORETTI M., DOMINICI L. et al., (2011), A protocol for the avaluation of genotoxicity in bile of carp (*Cyprinus carpio*) exposed to lake water treated with different didinfectants. *Chemosphere*, 84, 1521-1526s.

VOLF, F. a J. HAVELKA, (1958), *Rybářská zdravotvoda*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, ISBN neuváděno.

WOO, P.T.K., (1995), *Fish Diseases and Disorders, Volume 1, Protozoan and Metazoan Infections*, Department of Zoology, University of Guelph, Canada, 296- 302s.

WU, J., (2009), *Researches on the Biological Characteristics of Chilodonella Cyprini*, [10.7666/d.y1550182](https://doi.org/10.7666/d.y1550182)

YOUSAF, M.N. a M. D. POWELL, (2012), *The Effects of Heart and Skeletal Muscle Inflammation and Cardiomyopathy Syndrome on Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Levels in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.)*. The Scientific World Journal: ID 741302.

YUNUS, M., WIJAYA, A., (2022), *Histopathological Changes in Gills of Wild Snakehead Murrel, *Channa striata* (Bloch, 1793) Infected with *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 from Surabaya River*, Division of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas

Airlangga Veterinary Internal Medicine Division, Department of Clinic, Reproduction and Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, IPB University

ZUSKOVÁ, E., (2014), *Technická zpráva pilotního projektu – Využití kyseliny peroctové v rybníčních akvakulturách a při transportu ryb*, CZ.1.25/3,4,00/13.00449, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech.

ZUSKOVÁ, E., MÁCHOVÁ, J., VELÍŠEK, J. et al., (2011), *Možnosti využití kyseliny peroctové v rybářské praxi*. Edice Metodik FROV JCU Vodňany, 109, 26s.

8. SEZNAM TABULEK

Tabulka č.1: Léčebné dávky kyseliny peroctové (KPO)

Tabulka č.2: Léčebné dávky chloridu sodného (NaCl)

Tabulka č.3: Determinace stupně parazitární infekce na stupnici 0-4

Tabulka č.4: Tabulka využívaná při finální determinaci parazitů při parazitologickém vyšetření

Tabulka č.5: Výsledky hematologického vyšetření plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z laboratorního experimentu.

Tabulka č.6: Výsledky biochemického vyšetření plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z laboratorního experimentu.

Tabulka č.7: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí laboratorního experimentu

Tabulka č.8: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí 2.testu

Tabulka č.9: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí 3.testu

Tabulka č.10: Prevalence (%) a průměrný stupeň detekovaných parazitárních infekcí 4.testu

9. SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

Obrázky:

Obrázek č.1: Chemická struktura kyseliny peroctové a přípravek Persteril s účinnou látkou KPO, který je dostupný na území ČR

Obrázek č.2: Vzhled chloridu sodného

Obrázek č.3: *Ichtyobodo necator*

Obrázek č.4: *Chilodonella piscicola*

Obrázek č.5: *Ichthyophthirius multifiliis*

Obrázek č.6: *Trichodina* sp.

Obrázek č.7: *Dactylogyrus* sp.

Obrázek č.8: *Gyrodactylus* sp.

Obrázek č.9: *Eudiplozoon nipponicum*

Obrázek č.10: *Epistylis* sp.

Obrázek č.11: *Apiosoma pisciola*

Obrázek č.12: Odběr krve ryb pomocí metody odběru z ocasní cévy

Obrázek č.13: Náčrt Bürkerovy komůrky. způsob počítání erytrocytů

Obrázek č.14: Ryby použité k laboratornímu experimentu ve VÚRH Vodňany

Obrázek č.15: Akvárium o objemu 300 l , v němž probíhal experiment

Obrázek č.16: Každodenní měření a zaznamenávání chemických a fyzikálních vlastností vody pomocí přístrojů

Obrázek č.17: Detailní snímek odběru krve z podpátešní cévy za pomoci heparinizované jehly

Obrázek č.18: Již odstředěné skleněné kapiláry připravené pro vyhodnocování PCV + popis kapiláry

Obrázek č.19: Finální stanovení PCV pomocí posuvného měřítka s noniem

Obrázek č.20: Spektrofotometr pro stanovení množství hemoglobinu (Hb)

Obrázek č.21: Příprava preparátu na parazitologické vyšetření ze stěru kůže a z žaberního aparátu

Obrázek č.22: Schéma průběhu experimentu na sádkách v Rožmitále pod Třemšínem

Obrázek č.23: Pokusné zemní haltýře, v kterých probíhali praktické experimenty

Grafy:

Graf č.1: Sloupcový graf znázorňující množství hematokritu (PCV) v krvi u stanovených skupin

Graf č.2: Sloupcový graf znázorňující naměřené množství ALT u testovaných skupin

Graf č.3: Sloupcový graf znázorňující naměřené množství NH₃ ve tkáni u testovaných skupin

Graf č.4: Sloupcový graf znázorňující naměřené množství parametru LDH ve tkáni u testovaných skupin

Graf č.5: Sloupcový graf znázorňující naměřené množství parametru AST ve tkáni u testovaných skupin

Graf č.6 - Grafické znázornění nálezů parazitů na kůži v laboratorním experimentu

Graf č.7 - Grafické znázornění nálezů parazitů na žaberním aparátu v laboratorním experimentu

Graf č.8 - Grafické znázornění nálezů parazitů na kůži v provozních podmínkách (1.pokus)

Graf č.9 - Grafické znázornění nálezů parazitů na žaberním aparátu v provozních podmínkách (1.pokus)

Graf č.10 - Grafické znázornění nálezů parazitů na kůži v provozních podmínkách (2.pokus)

Graf č.11 - Grafické znázornění nálezů parazitů na žaberním aparátu v provozních podmínkách (2.pokus)

Graf č.12 - Grafické znázornění nálezů parazitů na kůži v provozních podmínkách (3.pokus)

Graf č.13 - Grafické znázornění nálezů parazitů na žaberním aparátu v provozních podmínkách (3.pokus)

Graf č.14 - Grafické znázornění nálezů parazitů na kůži v provozních podmínkách (pokus na tržních rybách)

Graf č.15 - Grafické znázornění nálezů parazitů na žaberním aparátu v provozních podmínkách (pokus na tržních rybách)

10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

KPO – Kyselina peroctová, popřípadě označení jednotlivých skupin

MRL – maximální reziduální limit

EHS – Evropské hospodářské společenství

RBC – počet erytrocytů

WBC – počet leukocytů

PCV – hematokrit

Hb – množství hemoglobinu

MCV – střední objem erytrocytů

MCH – střední obsah hemoglobinu v erytrocytu

MCHC – střední barevná koncentrace

Kontrola – kontrolní skupina experimentů

NaCl – skupina experimentů, popřípadě označení soli

NaCl 2 – skupina experimentů s použitou koncentrací 2 g/l soli

NaCl 5 – skupina experimentů s použitou koncentrací 5 g/l soli

PAA – anglická zkratka označení Persterilu

KPO 1 – skupina experimentů s použitou koncentrací 1 mg/l Persterilu

KPO 10 – skupina experimentů s použitou koncentrací 10 mg/l Persterilu

MCH – střední obsah hemoglobinu v erytrocytu

MCHC – střední barevná koncentrace

ALT – Alaninaminotransferáza

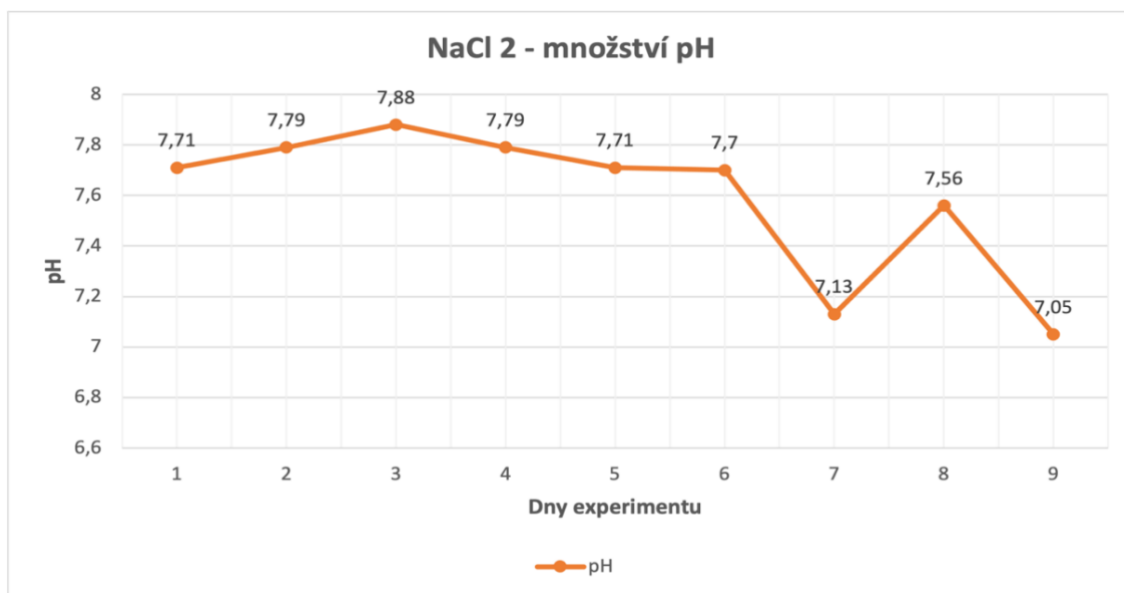
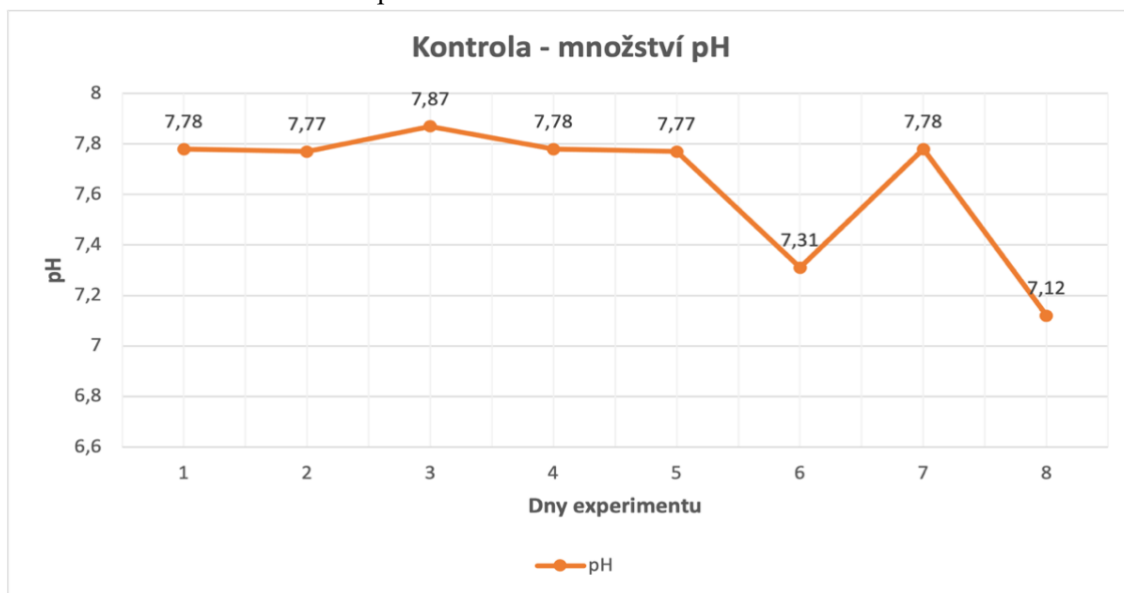
LDH – Laktátdehydrogenáza

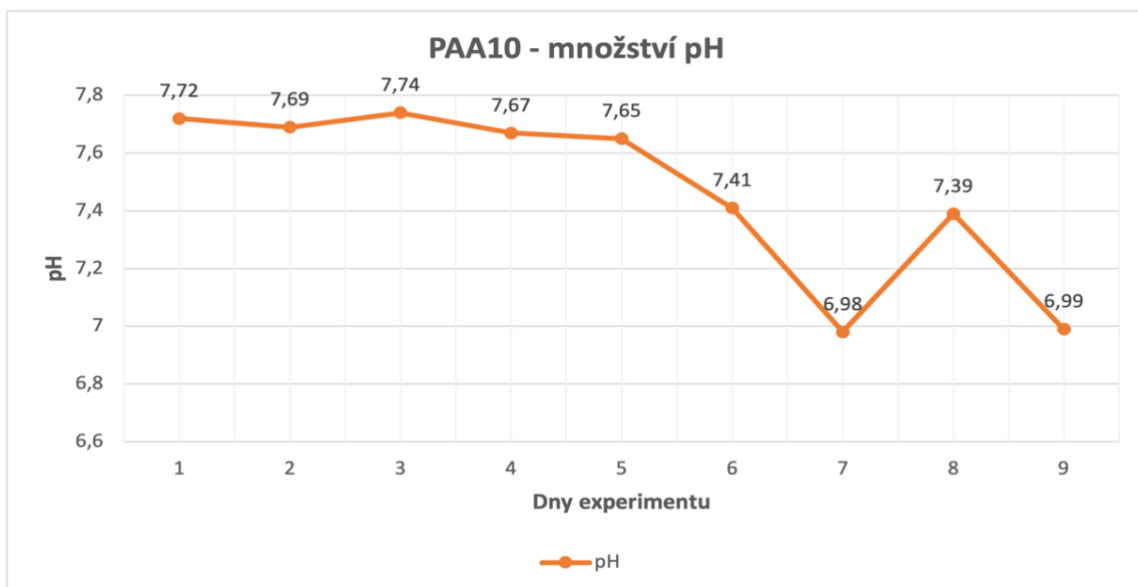
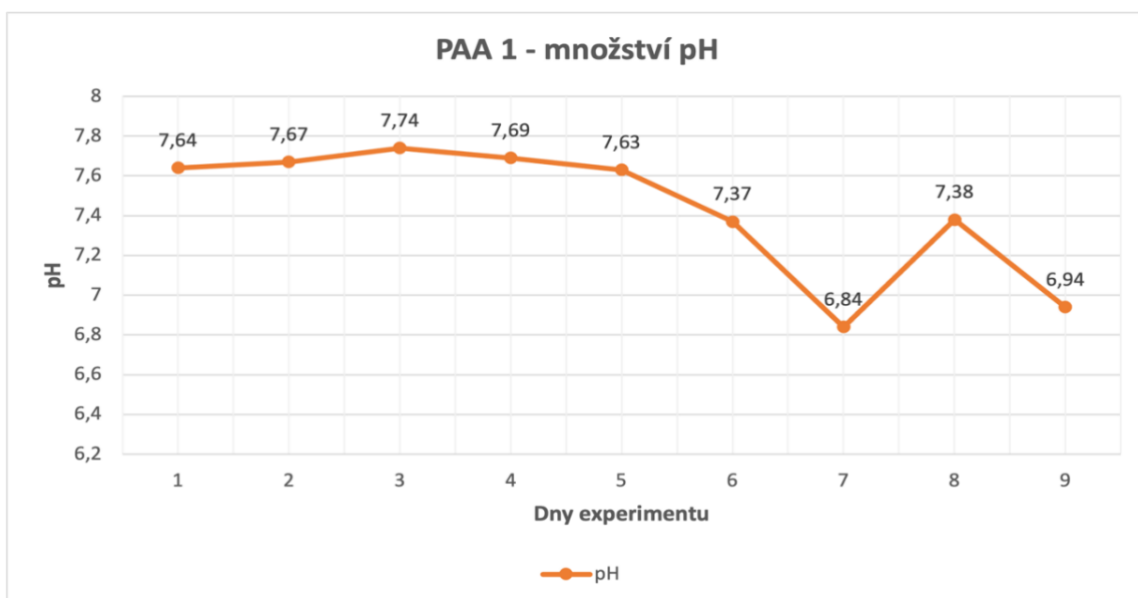
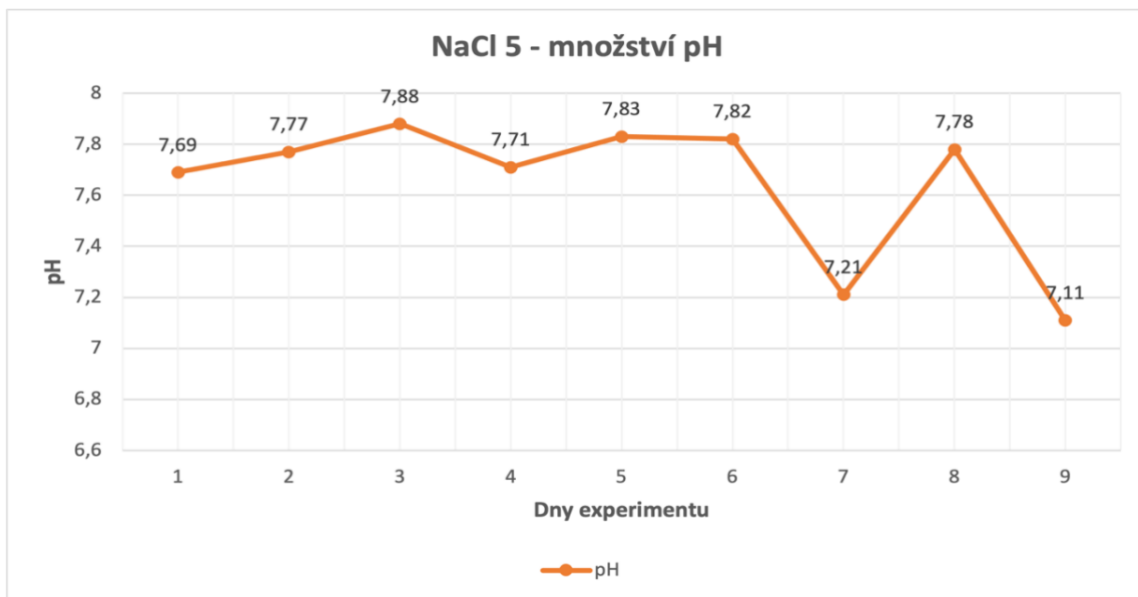
AST – Aspartátaminotransferáza

NH₃ – Amoniak

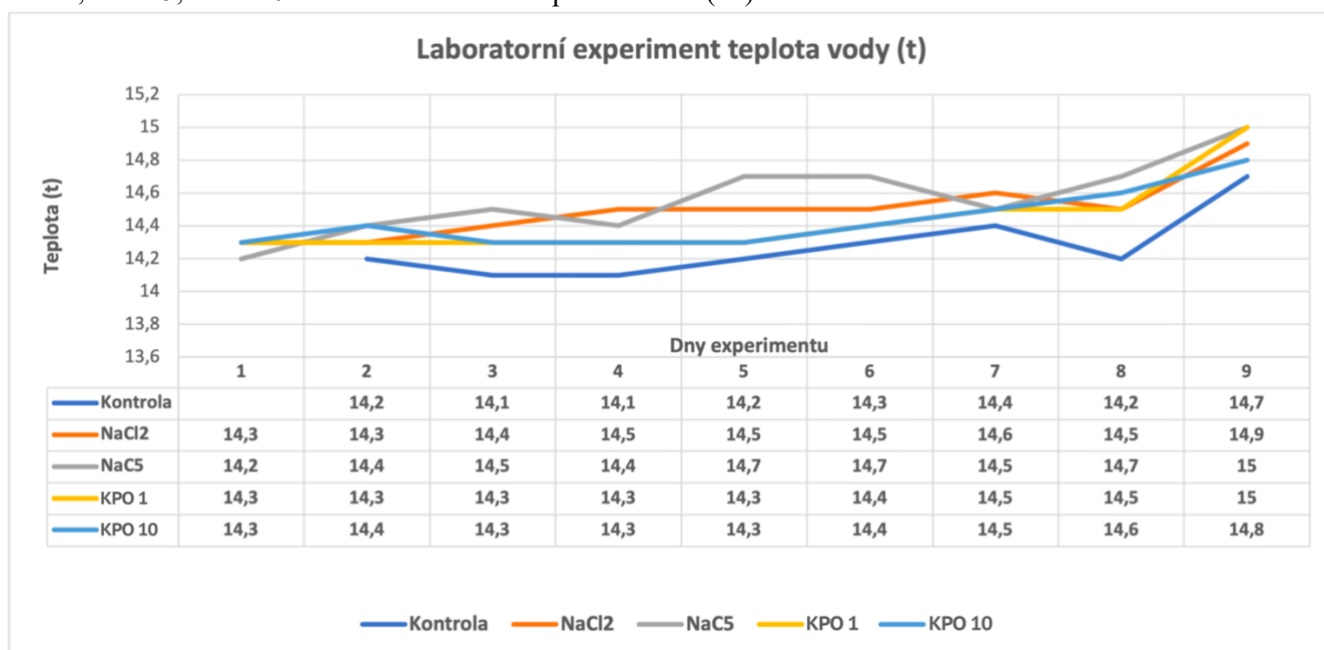
11. DOPLŇUJÍCÍ DATA

1. Naměřené pH v jednotlivých dnech experimentu ve skupinách Kontrola, NaCl 2, NaCl 5, KPO 10 a KPO 1 u laboratorního pokusu

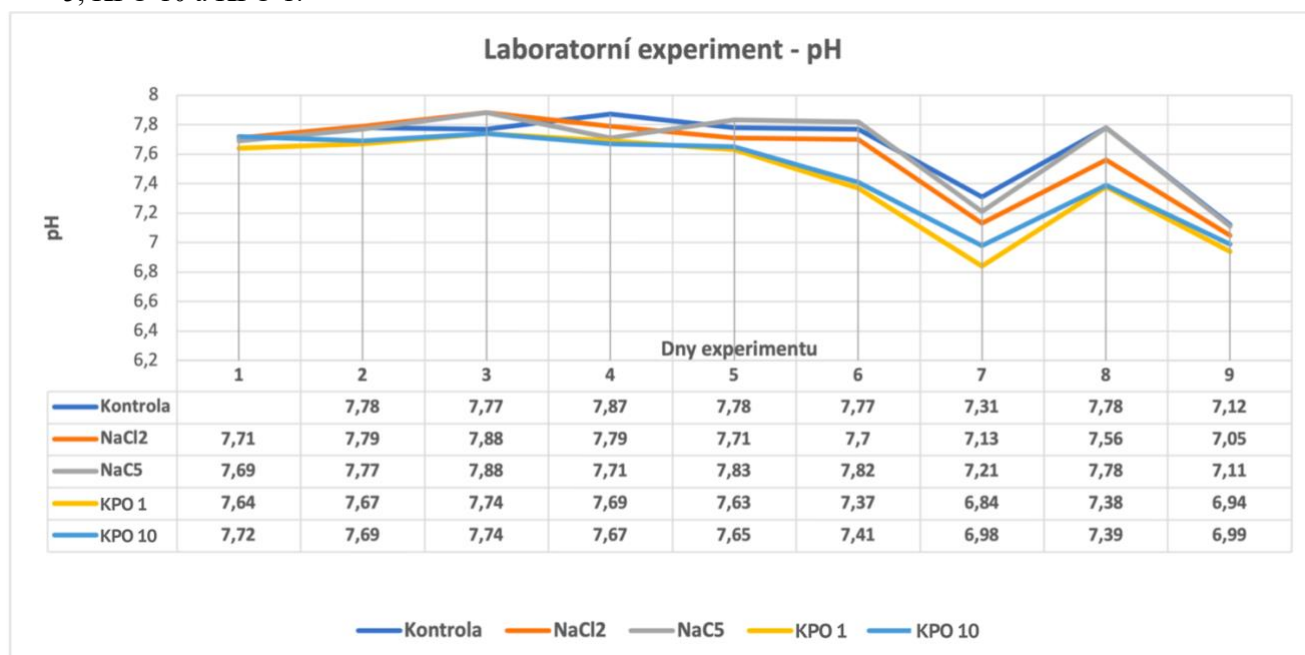




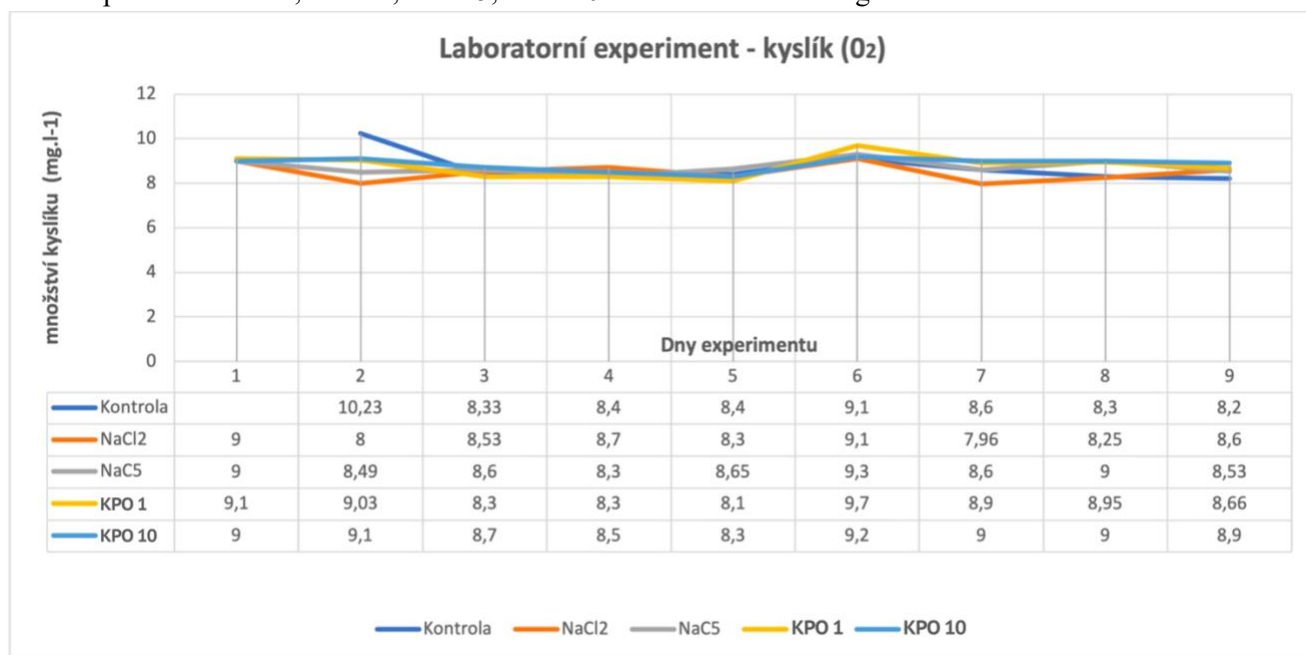
2. Naměřené teploty (t) v jednotlivých dnech laboratorního experimentu ve skupinách Kontrola, NaCl 2, NaCl 5, KPO 10 a KPO 1 měřená v stupních Celsia (°C).



3. Naměřené pH v jednotlivých dnech laboratorního experimentu ve skupinách Kontrola, NaCl 2, NaCl 5, KPO 10 a KPO 1.



4. Naměřené množství kyslíku ve vodě (O₂) v jednotlivých dnech laboratorního experimentu ve skupinách Kontrola, NaCl 2, NaCl 5, KPO 10 a KPO 1 měřená v mg/l.



5. Tabulka výsledků stupně parazitárního zatížení u testovaného plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*) při doplňkovém pokusu s hranolem soli bez použití kontrolní skupiny v zemním haltýři u jednotlivých ryb

Číslo ryby	Skupina	Nález	Nález
-	-	Kůže	Žaberní aparát
1	NaCl	Trichodina - 3	Trichodina - 2 Dactylogyrus - 2
2	NaCl	Trichodina - 4	Trichodina - 3 Dactylogyrus - 2
3	NaCl	Trichodina - 2	Trichodina - 2 Dactylogyrus - 2
4	NaCl	Trichodina - 2	Trichodina - 1 Epistylis - 2 Dactylogyrus - 2
5	NaCl	Trichodina - 1	Epistylis - 2 Dactylogyrus - 1
6	NaCl	Trichodina - 2 Epistylis - 1	Trichodina - 1 Dactylogyrus - 1
7	NaCl	Trichodina - 1 Epistylis - 1	Trichodina - 1 Dactylogyrus - 1
8	NaCl	Trichodina - 1	Trichodina - 2 Dactylogyrus - 2
9	NaCl	Trichodina - 2 Epistylis - 1	Dactylogyrus - 1 Trichodina - 1
10	NaCl	Trichodina - 1	0

*0 - bez nálezu, 1- ojedinělý nález, 2 - větší nález, 3 - infekce, 4 - silná infekce

12. ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo posoudit účinnost profylaktických a léčebných koupelí chloridu sodného (NaCl) a kyseliny peroctové (C₂H₄O₃) na ektoparazity a posoudit jejich vliv na zdravotní stav kapra obecného (*Cyprinus carpio*) pomocí hematologického a biochemického vyšetření. Rybám v laboratorním testu byla po expozici odebrána krev a bylo provedeno hematologické a biochemické vyšetření. Parazitární vyšetření bylo provedeno v rámci laboratorního i terénního experimentu. Výsledky hematologických parametrů se u jednotlivých skupin nelišily. Jediný statisticky významný rozdíl (na hladině významnosti $P < 0,05$) byl zaznamenán u hematokritu (PCV), kde se lišila vstupní kontrolní skupina od skupiny KPO 1 (použití koncentrace kyseliny peroctové 1 mg/l). Výsledky biochemického vyšetření prokázaly statisticky významné změny u 4 parametrů v porovnání s kontrolou. U skupin KPO 1 (1 mg/l) a KPO 10 (10 mg/l) byla vyhodnocena zvýšená aktivita enzymů LDH (Laktátdehydrogenázy), ALT (alaninaminotransferázy) a AST (aspartátaminotransferázy) a hladiny NH₃ (amoniak v plazmě). Pro využití v praxi jsou však tyto změny bezpečné. Z výsledků parazitárního vyšetření laboratorního pokusu je patrná účinnost 5 g/l NaCl po dobu 8 dnů na vícebuněčné parazity žaber (*Dactylogyrus* sp.). Osvědčilo se také použití KPO v koncentraci 1 mg/l po stejný počet dnů proti protozoálním parazitům *Apiosoma* sp. a *Trichodina* sp. U pokusů prováděných v provozních podmínkách na kapřím plůdku a tržních rybách byla prokázána statisticky významná schopnost eliminace protozoálních parazitů *Trichodina* sp. a žábrolístů *Gyrodactylus* sp. při použití KPO. Aplikované dávky NaCl v koncentraci 10 g/l snižují a zpomalují rozvoj monogeneálních infekcí žaber a kůže, které způsobují rody *Gyrodactylus* sp. a *Dactylogyrus* sp.

Klíčová slova: kapr obecný, parazitární onemocnění ryb, ektoparazit, parazitologické vyšetření, hematologické vyšetření, biochemické vyšetření

ABSTRACT

The aim of the present diploma thesis was to assess the effectiveness of prophylactic and curative baths of sodium chloride (NaCl) and peracetic acid (C₂H₄O₃) on ectoparasites and to determine their impact on the health of common carp (*Cyprinus carpio*) through haematological and biochemical examination. The test of antiparasitic treatment was executed in the form of long-term curative baths with different concentrations of active substances Persteril and NaCl, both in laboratory conditions and in the natural environment. The results of the haematological examination demonstrated statistically significant changes at the level of significance $P < 0.05$ for only one parameter in comparison with the evaluation. The level of haematocrit (PCV) in the fish in the group Control (before test) was higher than level in the group KPO 1 (peracetic acid at a concentration of 1 mg/l). The results of the biochemical examination showed statistically considerable changes in 4 parameters in comparison with the evaluation. The level of LDH (Lactate dehydrogenase), ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase) and NH₃ (plasma ammonia) was higher in the groups KPO 1 (1 mg/l) and KPO 10 (10 mg/l) than groups Control. Such figures suggest KPO's potential ability to influence health conditions. However, these changes are safe if the baths are used up to one week. The results of the parasitic examination show the effectiveness of NaCl (5 g/l) on multicellular parasites of gills (*Dactylogyrus* sp.). The use of Persteril in the KPO 1 group (1 mg/l), which contains peracetic acid, has also proved to be successful. Although it was more effective against protozoan parasites *Apiosoma* sp. and *Trichodina* sp. Experiments performed under operating conditions on a carp fry and market fish showed a statistically significant ability to eliminate protozoan parasites *Trichodina* sp. and gill beetles *Gyrodactylus* sp. The applied doses of NaCl (10 g/l) reduce and slow down the development of monogeneal gill and skin infections caused by *Gyrodactylus* sp. and *Dactylogyrus* sp.

Key words: *common carp, parasitic diseases of fish, ectoparasites, parasitological examination, haematological examination, biochemical examination*