

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod

Diplomová práce

2015

Roman Franěk

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Diplomová práce

Využití kyseliny peroctové v rybníčních akvakulturách

Autor: Roman Franěk

Vedoucí diplomové práce: MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Mgr. Aleš Pospíchal

Studijní program a obor: N4103 – Zootechnika, Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2015

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47 b 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 uvedenými ustanoveními 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.

Dne: 9. 5. 2015

.....

Roman Franěk

Na tomto místě bych rád poděkoval MVDr. Elišce Zuskové, PhD., za vedení diplomové práce práce a cenné rady v průběhu zpracování. Velké poděkování patří моým rodičům, kteří mě po celou dobu studia podporují.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Roman FRANĚK**
Osobní číslo: **V13N003P**
Studijní program: **N4103 Zootecnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Využití kyseliny peroctové v rybníčních akvakulturách**
Zadávající katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem práce je posoudit vliv kys. peroctové na parazitární infekce vyskytující se v rybníčních kulturách. Na podkladě zjištěných výsledků pak upřesnit popřípadě doplnit aplikační schéma kys. peroctové pro ryby a tyto úpravy náležitě zdůvodnit.

Metodický postup:

V rámci diplomové práce bude testován účinek kyseliny peroctové v rybníčních akvakulturách a při transportu ryb za účelem snížení ztrát ryb v průběhu chovného procesu. Postup bude založen na aplikaci KPO "na bedny" určené pro transport ryb po výlovu a dále do přirozeného vodního prostředí. Testování budou prováděna přímo v provozních podmínkách chovatelského zařízení (sádky Blatná). Dále budou použita přepravní zařízení o kapacitě 400-800 kg tržních ryb na jednu bednu.

Preventivní koupele v KPO při transportu budou testovány na různých vývojových kategoriích kapra obecného (K0, K1, K2) a na plůdku amura bílého. Do přepravních nádob bude aplikována KPO, následně budou po výlovu na bedny umístěny ryby příslušné odlovené kategorie, které budou po dobu přepravy (cca 30 min.) vystaveny účinkům KPO. Po přepravě budou ryby po dobu 14 dní sledovány a bude vyšetřován jejich zdravotní stav a zaznamenávána mortalita ryb. Vše bude prováděno a vyhodnocováno v porovnání s kontrolní neléčenou, stejným způsobem transportovanou, skupinou ryb. Tato testování budou prováděna opakovaně v období výlovů.

Kapr obecný (věková kategorie nerozhoduje), u kterého byla při předchozím vyšetření zjištěna parazitární nebo mykotická infekce (v předchozích letech byl v daném chovném subjektu pravidelně zaznamenán zvýšený výskyt infekce žábrolístem a zaplísňenosti žaber), bude na sádkách o stejné velikosti a přítoku vody 1.s-1 vystaven KPO dávkováné kontinuálně pomocí peristaltické pumpy v koncentracích doporučených na podkladě testování provedeného ve výzkumném subjektu. Druhá sádka se shodně infikovanou obsádkou bude ponechána jako kontrolní pouze s průtokem čisté vody. Po týdenní aplikaci bude vyhodnocen účinek léčby KPO.

Metodický bude postupováno v souladu s řešením Pilotního projektu Blatná 2014.

Rozsah grafických prací: **5-10 stran**

Rozsah pracovní zprávy: **30-40 stran**

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

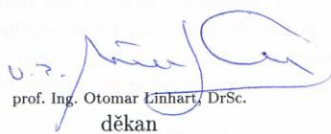
- Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J., Gela, D., 2011. Možnosti využití kyseliny peroctové v rybářské praxi. FROV JU Vodňany, Edice Metodik, č. 109, 26 s.
- Treves-Brown, K. M. 2000: Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 309s.
- Svobodová, Z. 2007: Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. 4. vyd., Informatorium, Praha, 264 s.
- Kouřil, J., Svobodová, Z., Vykusová, B., Hamáčková, J. 1984: Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice metodik, VÚRH Vodňany 8 s.
- Noga, E. J. 1995: Fish Disease. Diagnostic and Treatment. Mosby-Year Book, St. Louis, 367s..
- Pedersen, L.F., Meinelt, T., Straus, D.L., 2013. Peracetic acid degradation in freshwater aquaculture systems and possible practical implications. Aquacultural Engineering, 53, 65-71s.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 88, 29 s.
- Kitis, M., 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. Environment International, 30, 47-55s.

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

Konzultant diplomové práce: **Mgr. Aleš Pospíchal**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **14. února 2014**

Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2015**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Žitná 729/II
389 25 Vodňany (2)


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2014

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Literární přehled.....	8
2.1. Nemoci ryb a jejich vliv na akvakulturu.....	8
2.2. Prevence.....	9
2.3. Význam stresu ve vztahu k nemocem ryb	10
2.3.1. Vliv výživy.....	10
2.3.2. Hustota obsádek.....	11
2.3.3. Manipulace.....	11
2.3.4. Hygiena.....	11
2.4. Používání látek v akvakultuře.....	13
2.4.1. Používání přípravků v akvakultuře z hlediska legislativy	13
2.4.2. Vybrané druhy látek využívané v akvakultuře	15
2.4.3. Formy aplikace léčebných přípravků.....	16
2.5. Vybraná ektoparazitika pro léčbu ryb.....	20
2.5.1. Formaldehyd	20
2.5.2. Chlorid sodný.....	20
2.5.3. Kyselina peroctová.....	21
2.6. Nejběžnější ektoparazitární onemocnění ryb.....	30
2.5.1. Protozoózy	31
2.5.2. Helmintózy.....	35
2.5.3. Artropodózy	37
2.5.4. Mykózy	37
3. Metodika	39
3.1. Posouzení stability KPO ve vztahu k organickému zatížení vody a její teplotě.....	39
3.2. Testy v podmínkách rybářství Blatná s.r.o.	40
3.2.1. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb.....	40

3.2.2. Test účinnosti KPO proti <i>Saprolegnia parasitica</i> a parazitárnímu napadení u kapra.....	43
3.2.3. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období.....	44
3.3. Statistické vyhodnocení výsledků.....	46
4. Výsledky	47
4.1. Posouzení stability KPO ve vztahu k organickému zatížení vody a její teplotě.....	47
4.2. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb	50
4.3. Dlouhodobá koupel v KPO proti <i>Saprolegnia parasitica</i>	53
4.4. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období	54
5. Diskuze	56
5.1. Test rychlosti rozkladu KPO ve vodě s různým organickým zatížením a teplotou....	56
5.2. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb	58
5.2.1. Kategorie K ₁	58
5.2.2. Kategorie K ₂	59
5.2.3. Kategorie K ₃	60
5.3. Dlouhodobá koupel v KPO proti <i>Saprolegnia parasitica</i>	61
5.4. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období	62
6. Závěr	64
7. Přehled použité literatury	65
8. Přílohy.....	78
9. Abstrakt.....	82
10. Abstract.....	83

1. Úvod

Cílem diplomové práce bylo v rámci provozních podmínek ověřit látku, kterou lze v rybářství stále považovat za poměrně novou – kyselinu peroctovou (KPO), jakožto prostředek pro kontrolu běžně se vyskytujících ektoparazitů kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v rybničním chovu. Tento způsob dominující produkci ryb v ČR je typický tím, že ryby se většinu doby nacházejí ve velkém objemu vody, který je například v porovnání s uzavřenými systémy poměrně obtížně kontrolovatelný z hlediska preventivní, ale i léčebné péče.

Právě z toho důvodu, že byla zkoumána účinnost KPO v provozních podmínkách, byly způsoby aplikace KPO zvoleny tak, aby mohly být realizovány v rámci běžných postupů používaných v rybníkářství a z výsledků bylo možné jasně určit, jestli je daný způsob pro kontrolu jednotlivých ektoparazitů efektivní, případně do jaké míry. Zároveň byly zvoleny způsoby aplikace, které jsou časově nenáročné a jednoduché na provedení. S ohledem na šetrnost k ošetřovaným rybám, ve smyslu vyhnutí se dodatečné manipulace a tím i vystavení stresu, bylo ošetření ryb prováděno během rutinních činností spojených s rybničním chovem kapra.

Z výše uvedeného vyplývá i další cíl práce, kterým bylo ověřit účinnost ošetření ryb aplikací KPO formou koupele, pro jejíž realizaci nebylo potřeba žádné další respektive minimální manipulace, kdy se pouze využilo přepravy ryb, sádkování a příkrmování.

Výsledky této práce mohou být díky způsobu provedení pokusů bez problému aplikovatelné v rámci preventivních i léčebných postupů v rybničním chovu kapra proti běžně se vyskytujícím ektoparazitárním onemocněním.

2. Literární přehled

2.1. Nemoci ryb a jejich vliv na akvakulturu

Ryby produkované v akvakulturách jsou velmi významnou komoditou a zároveň celosvětově důležitou složkou stravy lidí (FAO, 2014). Neopomenutelným faktem je i to, že akvakultura je stále nejrychleji rostoucím odvětvím sektoru produkce potravin (Subasinghe, 2009; Hill, 2005), tudíž pozice ryb, jakožto zdroje živočišných bílkovin, bude stále nabývat na významu (FAO, 2014).

Obecně je chov ryb v akvakultuře podmíněn dostatkem znalostí o jejich požadavcích na fyzikální a chemické parametry prostředí a znalostmi o výživě. Dále je nezbytné mít zvládnutou péči o zdraví ryb (Hoole a kol., 2001), jelikož zvyšování produkce ryb a zároveň lepší hospodárnost jsou velmi úzce spjaty se zdravotním stavem obsádky (Svobodová a kol., 2007). Výsledkem vhodné chovatelské péče je menší nákladovost a zároveň zdravější a kvalitnější výstupní produkty (Hoole a kol., 2001).

Právě nemoci jsou považovány za největší ohrožení pro ryby, které jsou chované člověkem za různými účely (Eiras a kol., 2008). Zároveň jde o jeden z hlavních limitních prvků produkce ryb z akvakultury (Faruk a kol., 2004; Licek a kol., 2012; Subasinghe, 2009). Z těchto důvodů bude problematika zdravotního stavu ryb vždy aktuální a pro chovatele bude představovat ten nejkritičtější faktor, rozhodující o ekonomických ztrátách, které mohou být naprosto devastující (Eiras a kol., 2008). Nemoci ryb lze tedy označit za jednu z největších příčin ekonomických ztrát v akvakultuře (Meyer, 1991; Okaeme a kol., 1987). Jedná se pak především o náklady investované během odchovu, do vlivem nemoci uhynulých ryb, náklady na léčení a zároveň ztráty na přírůstcích v průběhu rekonvalescence (Francis-Floyd, 1997). Tyto negativní vlivy ale nekončí u chovatelů, jejich účinek je mnohem dalekosáhlejší. V případě oblastí, kde je akvakultura jedním z hlavních odvětví výroby, lze hovořit až o omezení socioekonomického rozvoje, například ve vztahu akvakultury jakožto zaměstnavatele (Subasinghe, 2009). Rozvojové země se mohou potýkat až s dopady na národní ekonomiku, nelze ani opomenout možný vliv onemocnění na bezpečnost potravin (Hill, 2005). Navíc může docházet k zavlečení patogenů mezi divoce žijící ryby, důsledkem čehož pak mohou být ohroženy i volně žijící populace (Johansen a kol., 2011).

2.2. Prevence

Za účelem eliminace rizika výskytu nemocí se v akvakultuře využívá souhrn opatření, která mají sloužit jako prevence proti nemocem, tzv. management zdraví ryb (Francis-Floyd, 1997). Do tohoto komplexu opatření lze zahrnout dodržování zoohygieny, adekvátní výživu ryb, zvyšování nespecifické imunity ryb, vakcinaci (Kolářová a Svobodová, 2009) a kontroly zdravotního stavu ryb (Francis-Floyd, 1997). Důvodem těchto opatření je obecný fakt, kdy v chovu ryb je vždy účelnější zdravotním problémům předcházet, než vynakládat úsilí na jejich řešení. Navíc některé stavy jsou velmi obtížně řešitelné, takže prevence je vždy účelnější než léčba (Hoole a kol., 2001). Velmi často se stává, že příznaky nákaz jsou popisovány až při pozorování moribundních a již uhynulých ryb ve vodě. Naopak v chovech ryb, kde je nedílnou součástí také kontrola zdraví obsádky, můžeme rychle reagovat na příznaky, které indikují zdravotní problém (změny příjmu krmiva, abnormální pohyby, apatie a zdržování se v jednom místě nádrže) (Hoole a kol., 2001). Prevence by tedy měla být naprosto nedílnou součástí každodenní péče o chované ryby (Svobodová a kol., 2007).

Výskytu zdravotních problémů nahrává samotná povaha vodního prostředí, ve kterém ryby žijí. Ryby jsou totiž během celého života neustále vystavovány potencionálním patogenům, které z prostředí obvykle nejde běžnými dezinfekčními metodami úplně eliminovat. Není-li vodní prostředí v optimální kvalitě a nejsou-li splňovány nutriční požadavky ryb se současným vystavováním ryb dalším stresorům, vznikají pro patogeny téměř ideální podmínky (Francis-Floyd, 1997). Navíc tuto skutečnost zhoršuje fakt, že pravděpodobně není možné zajistit takové podmínky prostředí spolu s péčí chovatele, které by naprosto eliminovaly ohrožení zdravotního stavu ryb. Je pouze možné optimalizovat chov ryb tak, aby riziko ohrožení zdravotního stavu bylo co nejnižší.

Pro správně nastavený systém preventivních opatření je třeba znát samotné příčiny, které způsobují poruchy zdravotního stavu. Jedná se o nesprávné krmení ryb, různé druhy stresu způsobené prostředím a napadení patogeny (Svobodová a kol., 2007).

Díky vysoké intenzitě produkce vodních organismů v různých moderních akvakulturních systémech lze očekávat, že bude naprosto nezbytné mít důkladně vyřešený systém prevence, který spolehlivě ochrání chovanou obsádku (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.3. Význam stresu ve vztahu k nemocem ryb

Stresory patří mezi skutečnosti, které jsou s chovem ryb v akvakultuře spojené a nevyhnutelné. Výsledky působení stresu mohou být nejen přímo letální, ale také subletální. Ty pak mohou vyústit v ohrožení fyziologických funkcí (Iwama a kol., 1997), což má mimo jiné za následek do určité míry zvýšenou vnímavost vůči nemocem (Turnbull, 2012). Stres se tedy přímo projevuje na zdraví ryb a ovlivňuje jejich celkové welfare (Ashley, 2007). Z toho plyne samotná definice stresu, který lze označit jako faktor (fyzikální a chemické povahy) vyvolávající tělesnou reakci (Rottmann a kol., 1992). V závislosti na intenzitě a toleranci stresu může dojít k narušení fyziologie, kdy nejvyšším stupněm reakce je šok, chápaný jako výrazné poškození rybiho organismu až s následkem smrti (Francis-Floyd, 1990; Lucký, 1986). Tělesná reakce je pak způsobena tím, že byla překročena tolerance ke stresoru (Francis-Floyd, 1990), která je ovlivněna kondicí ryb (např. kvalita výživy, zacházení s rybami) (Lucký, 1986). Proto by mělo být součástí péče o zdraví ryb i rozpoznávání stresových stavů, což následně umožňuje i zavést opatření, která je mohou minimalizovat (Iwama a kol., 1997). Díky tomu je následně možné nemocem ryb účinněji předcházet (Turnbull, 2012). Mezi základní stresory, které jsou v chovu ryb nejběžnější, lze zařadit (Rottmann a kol., 1992):

- Nevhodná výživa
- Vysoká hustota obsádek
- Manipulace
- Nedostatečná hygiena

2.3.1. Vliv výživy

Jak již bylo zmíněno výše, znalosti o výživě jednotlivých druhů ryb jsou jedním ze základních předpokladů pro jejich chov, neboť výživa ovlivňuje především růst, reprodukci a zdraví ryb (NRC, 1993). Výživový stav ryb je totiž považován za jeden z nejdůležitějších faktorů, který ovlivňuje schopnost odolat chorobám a tato skutečnost je pak jedním z důvodů, proč se znalosti v oblasti výživy ryb stále rozvíjí. Nedostatečnost diety v základních složkách (bílkoviny, aminokyseliny, esenciální mastné kyseliny, vitamíny a minerály) obvykle vede k podvýživě a dále k větší citlivosti vůči onemocněním, zvláště těch infekčního charakteru (Lall, 2000).

2.3.2. Hustota obsádek

Je známo, že zvýšená hustota obsádek v chovných systémech pro ryby znamená chronický stres, samozřejmě v závislosti na konkrétním druhu ryby, ale i na dalších podmínkách chovu (Baldwin, 2010). Mezi běžné reakce ryb patří zvýšení hladiny stresových hormonů (např. kortisolu) (Ashley, 2007). Dále dochází ke kontaktu mezi rybami, ale i chovným zařízením, což je spojené s poškozením ploutví a vznikem oděrek na povrchu těla (Baldwin, 2010). Tímto způsobem vznikají vstupní brány pro infekce ryb (Svobodová a kol., 2007). To následně vede ke zhoršení výživného stavu a snížení imunity, tím pádem větší vnímavostí k přítomným patogenům ve vodním prostředí (Ellis a kol., 2002). Další otázkou je hustota obsádek ve vztahu ke kvalitě chovného prostředí (metabolity a produkty z nich vznikající), ale to už je spíše věcí samotné technologie systému, nicméně i to může významně ovlivnit odolnost ryb (Ashley, 2007). U některých parazitů je také známo, že se přenášejí kontaktem mezi rybami, tedy při jejich větším množství v malém objemu vody (přeprava ryb) může snadněji dojít k napadení (Svobodová a kol., 2007). Stejně riziko rychlého přenosu a následného masivního úhynu také hrozí v intenzivním chovu teplomilných druhů ryb (Kouřil a kol., 1984).

2.3.3. Manipulace

V chovu ryb je v zásadě nevyhnutelné, aby ryby nebyly vystaveny procesům, jako je třídění, přelovování, výlov, transport a sádkování (Svobodová a kol., 2006). Jedná se o činnosti, které působí rybám poměrně významnou stresovou zátěž (Svobodová a kol., 1999; Ashley, 2007), při které může také docházet k mechanickému poranění ryb, především kůže, ploutví a žaberního aparátu (Svobodová a kol., 2007). Na základě minimalizování těchto negativních vlivů je třeba přijmout opatření, která minimalizují stres a riziko poškození v průběhu manipulace (Svobodová a kol., 1999; Ashley, 2007). Známým opatřením je například používání anestézie ryb za různými účely (Svobodová a kol., 2007).

2.3.4. Hygiena

Hygiena v chovu se vztahuje k zařazení dezinfekčních opatření, kterými je zajišťováno ničení choroboplodných zárodků (Kolářová a Svobodová, 2009), ale

i úkonům, mezi které může patřit karanténa a další opatření spojená s nákazami ryb (Rottmann a kol., 1992). V případě podcenění těchto opatření může dojít k zanesení zárodků chorob vodou, rybami, nářadím atd. (Svobodová a kol., 2007).

Nelze opomenout ani zoohygienu, kterou lze chápat, jako vztah mezi rybami a podmínkami prostředí, které mohou být v optimu daného druhu, ale právě i mimo něj. Následně může docházet k různě velkému narušení zdraví ryb na základě překročení tolerance. Ve vodním prostředí totiž na ryby působí velké množství faktorů. Mezi ty nejdůležitější patří fyzikálně chemické vlastnosti vody, teplota vody, světlo, pH prostředí, obsah kyslíku, zatížení vody organickými a chemickými látkami (Svobodová a kol., 2007).

Další rozdělení stresorů v chovu ryb podle jejich povahy uvádí Francis-Floyd (1990).

- Chemické – kvalita vody (obsah O₂, pH vody), znečištění vody, složení stravy, odpadní produkty metabolismu;
- Biologické – vysoké obsádky, interakce mezi rybami (teritorialita, omezení prostoru, mikroorganismy, makroorganismy (vnitřní a vnější parazité));
- Fyzikální – teplota, světlo, rozpuštěné plyny;
- Spojené s běžnými procesy v chovu ryb – manipulace, transport, léčebné zásahy.

2.4. Používání látek v akvakultuře

Stejně jako v ostatních odvětvích zemědělství (Barg a kol., 1996), tak i v produkci živočichů obecně (Burrige a kol., 2008) jsou včetně akvakultury používány různé chemikálie, jež působí na ryby, případně ošetřují prostředí, ve kterém se ryby nacházejí (Barg a kol., 1996). V souvislosti s rozvojem akvakultury lze tvrdit, že používání chemikálií se stalo rutinním a jde o běžnou součást chovatelských postupů (Redshaw, 1995).

V akvakultuře jsou nejčastěji používané látky, které lze rozdělit na antibiotika, antiparazitika, dezinfekční látky a anestetika (Burrige a kol., 2010). Dále zde mají své místo látky ovlivňující kvalitu vody, hnojiva, pesticidy, přísady do krmiv a látky s hormonálním účinkem (FAO, 1997). Při porovnání spektra dostupných látek pro akvakulturu s dalšími odvětvími produkce živočichů lze shledat určité nedostatky, kdy například u terapeutik je současný sortiment velmi limitovaný. To je ale především otázkou dalšího výzkumu a zároveň legislativy ohledně používání látek v akvakultuře (Athanasopoulou a kol., 2009).

Zároveň je ale třeba zmínit negativní stránku používání chemických látek v akvakulturách ve vztahu k životnímu prostředí. Mezi státy existují rozdíly v předpisech, které regulují jejich používání, ale i v povinnostech informovat o jejich používání (Burrige a kol., 2010). V rámci Evropské unie je snaha o harmonizaci autorizačního procesu používaných látek (Costello a kol., 2001). Velmi často je zmiňován chov lososa, v němž jsou využívány látky jako antibiotika, antiparazitika, dezinfekční látky a anestetika, které jsou v zásadě pro intenzivní chov nezbytné, ale také se dostávají do životního prostředí (Burrige a kol., 2010). Tím vzniká velký potenciál k tomu, aby lososí farmy poměrně významně ovlivňovaly okolní prostředí (Burrige a kol., 2008). V krajních případech pak může docházet k ovlivnění zdraví člověka (Burrige a kol., 2010).

2.4.1. Používání přípravků v akvakultuře z hlediska legislativy

V legislativě Evropské unie je používáno označení veterinární léčivé přípravky, které označuje jakoukoliv látku nebo kombinaci látek, které jsou použity k prevenci či léčbě onemocnění, dále pak i ke změně fyziologických funkcí chovaného živočicha. Ve směrnici o kodexu Společenství týkajícím se veterinárních léčivých přípravků jsou uvedeny následující přípravky: antibiotika, parazitocidy, anestetika, vitaminy, růstové

stimulátory a veterinární dezinfikanty. Tyto veterinární léčivé přípravky musí získat registraci, aby mohly být vůbec uvedeny na trh Evropské unie. Určité výjimky jsou u zvířat, kde není očekávána jejich konzumace – nepotravinové druhy ryb (např. akvarijní ryby) (2001/82/ES). Látky likvidující nežádoucí organismy (dezinfikanty a pesticidy) v chovu zvířat, které jsou používány na vybavení a chovné prostředí a zároveň nejsou určeny k přímému působení na chované organismy, jsou regulovány ve směrnici o uvádění biocidních přípravků na trh (98/8/ES).

Kvůli nezastupitelné roli používaných veterinárních přípravků v zemědělské je třeba legislativně určit limity reziduí, která jsou obsažena v čerstvé tkáni živočichů, kteří byli ošetřeni. Maximální residuální limit (MRL) je tedy nástrojem, jehož prostřednictvím se zajišťuje bezpečnost potravin za účelem ochrany veřejného zdraví konzumentů. Lze jej chápat jako největší přípustné množství rezidua, které svojí přítomností nezpůsobí spotřebiteli újmu (Alderman, 2009).

MRL se týká farmakologicky účinných látek, které jsou sledovány jako množství účinné látky v čerstvé tkáni vyjádřené v mg.kg^{-1} nebo $\mu\text{g.kg}^{-1}$ nebo v množství produktu jejího rozkladu či metabolitu, který zůstává v potravinách získaných ze zvířat (470/2009/ES). Kompletní seznam farmakologicky účinných látek včetně sledovaného rezidua, druhu zvířete, cílové tkáně a MRL (pokud je stanoven) je uveden v nařízení o farmakologicky účinných látkách (37/2010/EU). Ve vztahu k MRL je pak pro dané léčivo stanovena ochranná lhůta, která je definována veterinárním zákonem č. 166/1999 jako doba mezi poslední podáním léčivého přípravku a okamžikem, kdy z takto ošetřených zvířat lze získávat potraviny (Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči). Účelem tohoto opatření je tedy zajistit dostatečně dlouhou dobu pro to, aby hodnoty reziduí nepřesahovaly stanovenou hranici MRL. V případě ryb je ochranná lhůta udávána v denních stupních (násobením průměrné denní teploty vody počtem dnů) (Kolářová a Svobodová, 2009). Ochranná lhůta může být stanovena přímo výrobcem léčiva (Svobodová a kol., 2007), ale případě, že léčivo nemá ochrannou lhůtu, tak je podle veterinárního zákona stanovena na 500 stupňodnů (Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči).

Samotné použití léčiv je u potravinových ryb podmíněno registrací preparátu Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně. V případě, že daný přípravek nemá registraci, lze jej dovézt na základě registrace v jiných státech. U neregistrovaných léčiv je možné získat výjimku udělenou Státní veterinární správou,

kdy zodpovědnost leží na držiteli registračního rozhodnutí (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.4.2. Vybrané druhy látek využívané v akvakultuře

2.4.2.1. Dezinfekční látky

Dezinfekční prostředky jsou chemické látky, které se v chovu ryb běžně používají (Pokorný, 2004) za účelem zničení choroboplodných zárodků. Pokud je dezinfekce prováděna v rámci běžného cyklu chovu ryb, označuje se za dezinfekci preventivní. V případě již propuknuté nákazy se hovoří o dezinfekci ohniskové (Svobodová a kol., 2007).

K samotné dezinfekci se používá rozličné množství přípravků, například vápenné sloučeniny, přípravky s obsahem chloru, oxidující látky, ale i formaldehyd (Kolářová a Svobodová, 2008). Torgersen a Håstein (1995) definují chemický dezinfikant jako jakoukoliv chemickou sloučeninu, která zabraňuje infekci prostřednictvím inaktivace mikroorganismů, které jsou pro vodní živočichy patogenní. Konkrétněji lze dezinfekci popsat jako inaktivaci patogenů na veškerém povrchu s výjimkou živých tkání. V případě použití dezinfekční látky pro léčbu se z něj pak stává terapeutický prostředek. Mezi nejpoužívanější dezinfekční látky v evropské akvakultuře patří formaldehyd a jodoform, kdy obě látky mají ve většině států stanoven MRL (Costello a kol., 2001).

2.4.2.2. Antibiotika

Jedná se o chemické látky, používané za účelem tlumení růstu mikroorganismů, především bakterií, ale existují i antibiotika, která působí proti virům a houbám (Pokorný, 2004). Jejich používání je v akvakultuře naprosto běžné, což s sebou ale nese pravděpodobně celosvětový problém, kterým je podávání antibiotik za účely profylaxe a jejich celková vysoká spotřeba a nepříliš zodpovědné užívání v některých oblastech chovu ryb (Defoirdt a kol., 2011). Následkem může být zvýšení rezistence bakterií (Kelly, 2013), což vede k zúžení spektra účinných antibiotik, ale i zvýšení finanční náročnosti na léčbu. Z tohoto to důvodu je třeba dodržovat zásady používání antibiotik, které uvádí Svobodová a kol. (2007).

V ČR jsou registrovány přípravky, které obsahují flumequin a oxytetracyklin, dále je pak možné s povolením používat antibiotika, která obsahují amoxicilin, florfenikol (Svobodová a kol., 2007).

2.4.2.3. Anestetika

Účelem používání anestetik v akvakultuře je především ochrana ryb při manipulaci a přepravě před stresem. Konkrétně se může jednat o minimalizaci rizika zranění, snížení intenzity metabolismu (především spotřeby kyslíku a exkrece produktů metabolismu) a ulehčení manipulace pro obsluhu (např. při výtěru nebo výlovu). Ideální anestetikum by mělo mít rychlý nástup účinku, zároveň by se měly ryby po vyjmutí anestetika rychle zotavit. Další požadavkem je efektivita při nízkých dávkách s tím, že by toxické dávky měly značně převyšovat dávku potřebnou k anestezii ryb (Coyle a kol., 2004).

Samotné provedení anestezie je formou koupele, které by měla předcházet zkouška snášenlivosti. V rámci ČR je povoleno používání MS 222 (tricain methanosulfonát), hřebíčkového oleje a 2-Phenoxyethanolu (Svobodová a kol., 2007). Z dalších anestetik pro ryby, které uvádí zahraniční autoři, lze zmínit Benzocain, Quinaldin (v USA pouze pro nepotravinové ryby) a oxid uhličitý (Coyle a kol., 2004).

2.4.2.4. Antiparazitika

Používají se pro léčbu onemocnění, která jsou způsobená ekto- a endoparazitami. Na trhu jsou dostupná antiparazitika pro použití formou koupele (např. Cypermethrin, Praziquantel, Toltaruzil), která se obvykle používají proti ektoparazitům. Zároveň lze ale formou koupele postihnout i endoparazity, například přípravek Levamisol se používá proti hlístici *Anguillicola crassus*. Druhým způsobem podání je orální cesta, kdy je antiparazitikum obsaženo v krmivu. Tímto způsobem se používá například Emamectin proti mořské vši (*Lepeophtheirus salmonis*), Praziquantel proti tasemnicím ve střevě a motolici *Diplostomum spathaceum* (Svobodová a kol., 2007).

2.4.3. Formy aplikace léčebných přípravků

K vlastní aplikaci látek se přistupuje na základě rizika, které pramení z dané nemoci. Lze rozlišit dva způsoby, kdy se může jednat o použití látky proti již rozvinuté

nemoci, přímo ohrožující obsádku ryb. Jedná se tedy o použití látky na základě již zjištěných příznaků nemoci. Druhým způsobem je aplikace látky v období, kdy lze ohrožení ryb nemocí očekávat. V tomto případě se může například jednat o koupele jiker v průběhu jejich inkubace, což jsou velmi častá preventivní opatření v chovu ryb (Svobodová a kol., 2007). Samotné zvolení formy aplikace závisí na několika faktorech, které limitují dále uvedené způsoby aplikace (Noga, 2000):

- Chovné prostředí – Může se jednat o uzavřený systém, průtočný systém, rybník nebo klecový chov. Uzavřený systém umožňuje použití nejširší škály způsobů aplikace, ostatní systémy mají jistá omezení, především v důsledku většího objemu vody a environmentálního rizika aplikace.
- Dostupnost léčebného přípravku – Zde se především jedná o komerčně dostupná medikovaná krmiva (antibiotika a některá antiparazitika) a vakcíny.
- Množství ošetřovaných ryb – Ve spojitosti s pracností pro obsluhu, kdy bude naprosto rozdílná náročnost provedení například při ošetření ryb koupelí oproti injekční vakcinaci.

2.4.3.1. Injekční aplikace

Tento způsob je rozšířen především v chovu lososovitých ryb, kde je jeho význam velmi klíčový. Rybám jsou podávány (intramuskulárně a intraperitoneálně) (Noga, 2000) inaktivované bakteriální patogeny, ale je také vyvinuto několik vakcín proti virovým onemocněním (Somerset a kol., 2005). Lze jmenovat vakcíny proti *Aeromonas salmonicida* (Vilumsen a kol., 2012), *Flavobacterium psychrophilum* (LaFrentz a kol., 2002), *Renibacterium salmoninarum* (Griffiths a kol., 1998), *Vibrio anguillarum* (Kumar a kol., 2007).

Hlavní výhodou injekční aplikace je snadná dávkovatelnost a přesnost aplikace (Noga, 2000). Největším problémem tohoto způsobu aplikace je v tom, že jde o metodu, která je náročná na manuální práci (samotná aplikace, vážení ryb pro stanovení individuální dávky), s rybami je nutné manipulovat, tudíž dochází k jejich stresování a zároveň je třeba počítat i s možným poškozením ryb (Svobodová a kol., 2007; Noga 2000).

2.4.3.2. Orální aplikace

Léčebné látky je možné podávat ve formě medikovaných krmiv a pomocí zavedení sondy do gastrointestinálního traktu (Svobodová a kol., 2007). Na trhu jsou komerčně dostupná krmiva s obsahem antibiotik (např. tetramycin) a dalších látek (obvykle vitaminy), která se používají v boji proti bakteriálním nálezům ryb (Kelly, 2013). Zároveň existují krmiva, která se používají proti endoparazitům (Svobodová a kol., 2007). Hlavní výhodou ošetřování ryb pomocí medikovaných krmiv je nenáročnost, ale také minimalizace stresu, který je nevyhnutelný u ostatních způsobů aplikací léčebných látek. Naopak negativa lze sledovat především v obtížnosti provedení tohoto způsobu aplikace u ryb, které již často v důsledku onemocnění trpí nechutenstvím, a také v tom, že nemusí vždy dojít k rovnoměrné distribuci léčiva v ošetřené obsádce ryb (Noga, 2000).

Zároveň je možné orální cestou provést vakcinaci proti bakteriálním onemocněním, například proti *Vibrio anguillarum*, kdy v porovnání s injekční vakcinací se značně snižuje pracnost této metody, ale zároveň pro platí výše zmíněné nevýhody spojené s aplikací medikovaných krmiv (Joosten a kol., 1997).

2.4.3.3. Aplikace sondou

Podávání léčebných látek pomocí jícnové sondy je spíše okrajovou záležitostí, kterou lze použít pouze při malém počtu ošetřovaných ryb. Obvykle se jedná o zavedení endoparazitika rozpuštěného v gelu (Svobodová a kol., 2007).

2.4.3.4. Koupele ryb

Obecně se koupelemi rozumí expozice ryb ve vodě, kde je rozpuštěno určité množství léčebné látky (Treves-Brown, 2000). Účelem koupelí je pak především léčba povrchových onemocnění kůže, ploutví a žaber, částečně pak i vnitřních parazitóz (Svobodová a kol., 2007; Francis-Floyd, 1996). Zároveň mohou koupele sloužit jako prostředek pro vakcinaci ryb (Thorburn a Jansson, 1988). Pro tlumení bakteriálních chorob nejsou koupele příliš doporučovány a je vhodnější použít medikovaná krmiva, kde však vyvstává problém s požitím konkrétní stanovené terapeutické dávky nemocnou rybou (Francis-Floyd, 1996).

Mezi základní předpoklady úspěšně provedené koupele patří 100% účinnost, použitá látka musí být bez nežádoucích účinků na ryby (např. poleptání kůže a žaber)

a zároveň jednoduchá a finančně nenáročná příprava koupele s trváním expozice co nejkratší dobu (Ergens, 1962). Koupele je možné podle doby expozice ryb rozdělit následovně:

- Ponořovací koupel je charakteristická velmi krátkou dobou expozice ve vysoké koncentraci léčebné látky (Svobodová a kol., 2007). U tohoto typu koupele je naprosto zásadní, aby nebyla překročena doba koupele, jinak může dojít k přímému ohrožení zdraví ryb (Francis-Floyd, 1996). Z časového hlediska se uvádí různé údaje, ale obvykle jde o několik desítek sekund až 5 minut (Svobodová a kol., 2007; Francis-Floyd, 1996)
- Krátkodobá koupel obvykle trvá několik desítek minut až několik hodin, v porovnání s ponořovacími koupelemi se používají nižší koncentrace přípravků (Svobodová a kol., 2007; Francis-Floyd, 1996).
- Dlouhodobá koupel znamená použití nízkých koncentrací léčebných látek, kterým jsou ryby vystaveny po dobu několika hodin až dní (Svobodová a kol., 2007; Francis-Floyd, 1996).

Před použitím samotné koupele ryb je pak velmi důležité pamatovat na to, že přípravky, které se používají pro koupele ryb, nejsou naprosto neškodné, respektive jsou více škodlivé pro patogenní organismy než pro ryby samotné (Francis-Floyd, 1996). Koupele jsou totiž považovány za kompromis mezi destrukcí patogenů a nebezpečím v podobě potenciální toxicity pro ryby, navíc je třeba mít na paměti riziko vzniku nežádoucích meziproductů, ale i možné ohrožení prostředí z vypouštění takto ošetřené vody (Pedersen a kol., 2009). Z těchto důvodů je třeba koupel provádět tak, aby došlo k co nejúspěšnější likvidaci cílových patogenů s co nejmenším rizikem poškození ryb (Francis-Floyd, 1996). Ošetřování ryb koupelí lze tedy označit za poměrně rizikovou manipulaci s rybí obsádkou. Proto je třeba dodržovat určité obecné zásady a opatření, která minimalizují riziko ohrožení ryb při koupeli, jako jsou:

- Soustavná kontrola zdravotního stavu ryb, která zajistí včasné podchycení případného zdravotního problému (Svobodová a kol., 2007)
- Znalost používaného přípravku a správného stanovení léčebné dávky (Francis-Floyd, 1996), včetně přizpůsobení použité koncentrace danému zdravotnímu stavu ryb (Svobodová a kol., 2007).
- Dostatečné rozmíchání přípravku ve vodě, aby v koupeli nebyla místa s vysokou koncentrací účinné látky tzv. „hot spots“ (Francis-Floyd, 1996).

- Před koupelí větší obsádky provést kontrolní test na menším množství ryb s cílem určit citlivost daného druhu, popřípadě dané věkové kategorie (Svobodová a kol., 2007).

2.5. Vybraná ektoparazitika pro léčbu ryb

2.5.1. Formaldehyd

Jedná se o běžně dostupnou sloučeninu, která se skládá z vody, formaldehydu (37 %) a metanolu (10 – 15 %) (Francis-Floyd, 1996). Tato sloučenina je ve formě roztoku používána především pro kontrolu ektoparazitů. Zároveň působí jako velmi univerzální dezinfikant, který má baktericidní, virucidní a fungicidní účinky (Khodabandeh a Abtahi, 2006). Znamé je působení na bílkoviny, kdy dochází k ireverzibilní denaturaci (Kouřil a kol., 1984).

Formaldehyd je používán formou krátkodobé koupele, kdy se terapeutické koncentrace obvykle pohybují v řádech desítek mg.l^{-1} . V případě dlouhodobých koupelí se používají koncentrace v řádech setin mg.l^{-1} , kdy platí, že se vzrůstající teplotou vody je třeba snižovat použitou koncentraci (Francis-Floyd, 1996, Svobodová a kol., 2007; Kolářová a Svobodová, 2009).

Koupele ve formaldehydu je možné použít při nálezech parazitárních druhů patřících do rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Brooklynella*, *Ichthyophthirius multifiliis* (Noga, 2000), *Silurodiscoides* (Kolářová a Svobodová, 2009) a při povrchovém zaplísnění (Svobodová a kol., 2007). U ošetřených ryb je následně nutné dodržet minimální ochrannou lhůtu 500 stupňodnů (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.5.2. Chlorid sodný

Kuchyňská sůl je vůbec jednou z nejčastěji používaných sloučenin v akvakultuře. Jsou například známy pozitivní účinky přidavku soli do vody při transportu na minimalizaci stresu ryb a na zmenšení toxického účinku dusitanů (Francis-Floyd, 1996). Zároveň je široce využívaným antiparazitikem, které je snadno dostupné, levné a bezpečné pro obsluhující personál (Svobodová a kol., 2007). Další výhodou je

zařazení NaCl do seznamu látek, u kterých není nutné stanovovat MRL (Kolářová a Svobodová, 2009).

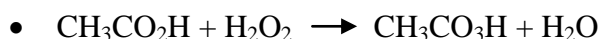
Dobrou účinnost vykazuje především proti protozoálním parazitům, kteří napadají pokožku a žábry ryb (Francis-Floyd, 1996). Svobodová a kol. (2007) uvádí dobrou účinnost koupele v NaCl při parazitárním napadení rody *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilonodella*, *Trichodina*, *Trichodinella*. Ošetření formou koupele lze provést i při napadení parazity z rodů *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Piscicola* a *Argulus*, ale je třeba počítat s menší účinností ošetření.

Doporučovaná koncentrace a doba ošetření závisí na druhu, věku a onemocnění, nicméně se obecně jedná o koncentrace v jednotkách procent (obvykle maximálně 3% roztoky NaCl) s dobou působení do 30 minut (Svobodová a kol., 2007; Francis-Floyd, 1996). U dlouhodobých koupelí se používají koncentrace 1 – 2 g.l⁻¹ (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.5.3. Kyselina peroctová

Kyselina peroctová (KPO) je ve vodě rozpustitelná kapalina, která je čirá a bezbarvá (ECETOC, 2001). Průmyslově se KPO vyrábí autooxidací aldehydu (Klenk a kol., 2000). Charakteristickým znakem je pronikavý octový zápach. Roztoky kyseliny peroctové mají kyselé pH, které je obvykle < 1. KPO je na trhu dostupná jako roztok s vodou, zároveň také jako směs spolu s peroxidem vodíku a kyselinou octovou, která je rozpuštěna ve vodě a jednotlivé složky jsou zastoupeny v různém množství (ECETOC, 2001). KPO lze na trhu najít jakou součást různých přípravků pod různými registrovanými obchodními názvy Asperix[®], Clarmarin[®], Degaclean[®], Peraclean[®] (Evonik, 2015), Oxykil[®], Oxystrong[®], Proxitane[®] (Solvaychemicals, 2015). V ČR jsou dostupné přípravky s různým obsahem KPO pod názvy Wofasteril[®] a Persteril[®] (Zusková a kol., 2011)

V případě směsi lze složení vyjádřit následující rovnicí (Kitis, 2004):



Kde je CH₃CO₂H kyselina octová, H₂O₂ peroxid vodíku a CH₃CO₃H kyselina peroctová.

Využití kyseliny peroctové je v chemické syntéze (bělení a dezinfekce) (ECETOC, 2001). Přípravky obsahující kyselinu perocetovou se řadí mezi často používané prostředky pro dezinfekci a sterilizaci v medicíně (Malchesky, 2001), k dezinfekci a čištění odpadních vod v čistírnách (Kitis, 2004), ale i odpadních vod z námořních lodí (Lafontaine a kol., 2008). Studie zároveň prokázaly, že KPO může být vhodnou alternativou v přípravě pitné vody (Profaiser a kol., 2007), k běžně používaným látkám v zemědělství (Alvaro a kol., 2009; Mari a kol., 2004) a potravinářství (Ölmez a Kretzschmar, 2009) včetně zpracování masa (Bauermeister a kol., 2008).

I přes poměrně široké možnosti použití je hlavní potenciál KPO zaměřen na čištění odpadních vod, kde by měla nahradit chlór (Stampi a kol., 2002), především díky vysoké účinnosti při nízkých dávkách a menší tvorbě sloučenin vykazujících genotoxicitu (Zanetti a kol., 2007; Crebeli a kol., 2005). Otázka vzniku meziproductů při použití KPO v čištění odpadních vod je ale samozřejmě závislá na dalších podmínkách prostředí. Například Dell'Erba a kol. (2007) zaznamenal zvýšení množství aldehydů, nicméně naměřená množství byla stále pod legislativními limity. Stejně tak popisují Booth a Lester (1995) schopnost KPO zapříčinit vznik chlorfenolu a bromofenolu z fenolu, což bylo spíše zapříčiněno specifickými podmínkami. Vliv na životní prostředí bude díky způsobu použití pravděpodobně zanedbatelný (ECETOC, 2001).

Z hlediska použití kyseliny perocetové lze rozdělit pracovní roztoky na ty, které mají < 15 % obsahu KPO a používají se pro sanitaci, dezinfekci a sterilizaci, a na roztoky s vyšším než 15% obsahem kyseliny peroctové, které se používají pro oxidaci organických sloučenin (ECETOC, 2001). V kombinaci s peroxidem vodíku byl prokázán synergický účinek ve smyslu baktericidních účinků (Leaper, 1984).

2.5.3.1. Mechanismus působení

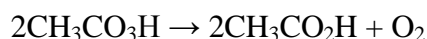
Principem účinku KPO je uvolnění aktivního kyslíku (Greenspan a MacKellar, 1951) a produkce reaktivních hydroxylových radikálů, které destruktivně působí na povrchu buňky (Lefevre a kol., 1992). Důsledkem působení KPO je ovlivnění chemoosmotické funkce lipoproteinu v cytoplazmatické membráně, což vede k narušení transportu mezi vnitřním prostředím buňky a okolím, případně dochází i k ruptuře buněčných membrán (Greenspan a MacKellar, 1951).

Při vztažení účinku přímo na mikroorganismy je uváděno, že KPO svým působením může způsobit poškození všech typů makromolekul (sacharidy, nukleové kyseliny, lipidy a aminokyseliny), což následně vede ke smrti buňky v důsledku její lýzy (Zusková a kol., 2011). Tato vlastnost je dána nízkou molekulární hmotností KPO, což umožňuje vstup membránami a následnou reakci, při které dochází k poškození vnitrobuněčných struktur (Finnegan et al., 2010). Zároveň inaktivuje katalázu, což znamená, že KPO má i sporicidní a ovicidní vlastnosti (Block, 2001).

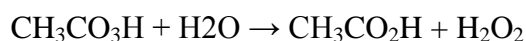
2.5.3.2. Osud ve vodním prostředí

KPO může ve vodném roztoku reagovat třemi různými reakcemi v závislosti především na pH prostředí podle těchto rovnic (Yuan a kol., 1997):

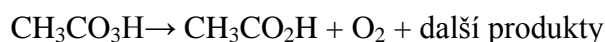
- Spontánní rozklad



- Hydrolyza



- Rozklad katalyzovaný přechodnými kovy



2.5.3.3. KPO v akvakultuře

Kyselina peroctová je v posledních letech považována za určitou alternativu k běžně používaným přípravkům v chovu ryb (Lahnsteiner a Weismann, 2007). Již zmíněné využití KPO jako dezinfikantu v různých situacích ji v akvakultuře předurčuje ke stejnému účelu, zároveň je používána jako terapeutická látka, která je obvykle aplikována formou koupele (Liu a kol., 2014). V případě chovu ryb v akvakulturách je předpokládáno, že kyselina peroctová má spolu s hydrogenperoxidem velký potenciál nahradit formalín, který je používán v boji proti patogenům, především pak ektoparazitům (Pedersen a kol., 2009; Pedersen a kol., 2013). Lze totiž očekávat, že do budoucna bude vyvíjen tlak na to, aby byly používány pouze přípravky, které mají naprosto zanedbatelný účinek na prostředí a na obsluhující personál. Příkladem může být zakázání i malachitové zeleně, u které jsou potvrzeny genotoxické a karcinogenní účinky (Burridge a kol., 2008) a perzistence metabolitů v ošetřených rybách (Bauer a kol., 1998). Podobně může dopadnout i výše zmíněný formaldehyd, který je naprosto běžně používaný pro eliminaci parazitů, ale jde o látku karcinogenní, tudíž jsou s jeho

použitím spojena rizika ve vztahu k bezpečnosti práce (Pedersen a Henriksen, 2012; Pedersen a kol., 2009). O výše zmíněných sloučeninách lze tedy říci, že úplně nenaplňují předpoklady pro použití v akvakultuře, kdy je předmětem sledování vzniku toxických reziduí po aplikaci a zároveň jejich množství, které je vypouštěno do recipientu (Liu a kol., 2014).

Dosavadní studie jasně ukazují, že KPO je velmi vhodnou látkou pro použití v akvakultuře. Pravděpodobně tím největším nedostatkem je nízký terapeutický index (kolikrát převyšuje letální koncentrace pro ryby letální koncentraci pro původce onemocnění), který by měl být minimálně 4 (Svobodová a kol., 2007). Zusková a kol. (2011) doporučuje pro ošetření ryb v koncentraci 1 mg.l^{-1} KPO, což při porovnání dále uvedených letálních koncentracích získaných z testů toxicity (podkapitola 2.5.3.6. Vliv KPO na ryby) naznačuje, že zmíněného minimálního terapeutického indexu není dosaženo.

Dále je nutné získat více informací o působení různých koncentrací KPO na různé druhy ryb, včetně všech jejich vývojích stádií. Studie totiž prokázaly, že použití KPO může být efektivní již u jiker napadených plísněmi (Marchand a kol., 2012).

Komplexní informace pak umožní stanovení terapeutických koncentrací, které zajistí dostatečnou účinnost ošetření bez ohrožení obsádky ryb, což je naprosto nezbytným předpokladem pro běžné používání KPO v provozním chovu ryb.

Podle nařízení komise EU č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu nemá KPO stanovený MRL, tudíž spadá do kategorie c) farmakologicky aktivních sloučenin, kde není potřeba stanovení MRL (470/2009/ES) a je jí možné použít pro všechna potravinová zvířata.

2.5.3.4. Možnosti použití KPO

V závislosti na koncentraci používaného komerčně dostupného přípravku, který obsahuje KPO, se pro daný způsob použití provádí ředění nejlépe pitnou, organicky nezatíženou vodou (Zusková a kol., 2011). Stejně jako u jiných koupelí (Svobodová a kol., 2007), tak i u KPO je třeba provést zkoušku snášenlivosti na několika jedincích. Použití KPO v chovu ryb lze podle Zuskové a kol. (2011) rozdělit následovně:

- Dezinfekce v rámci chovatelských prostorů a dalšího zázemí – Zde je doporučeno používání pracovních (ředěných) roztoků KPO o koncentracích v rámci desetin až jednotek mg.l^{-1} .

- Preventivní koupele jiker – V případě napájení líhně vodou z povrchových zdrojů je zde pravděpodobná kontaminace zárodky plísní a mikroorganismů, které mohou napadat odumřelé jikry. KPO je pak aplikována přímo do inkubačního zařízení o koncentracích v rozmezí 0,5 – 5 mg.l⁻¹ v závislosti na teplotě vody. Doba koupele závisí na citlivosti jiker k obsahu kyslíku ve vodě, protože v průběhu koupele je doporučováno zastavení přítoku.
- Preventivní koupele ryb – V kontrolovaném prostředí je umožněno v rámci chovného cyklu provádět zásahy, kterými se snižuje riziko propuknutí zdravotního problému. V rámci prevence šíření patogenů se doporučuje aplikovat 1 mg.l⁻¹ KPO. Toto ošetření je možné použít při odchovu raných stádií, ale i v rámci péče o generační ryby po umělém výtěru.
- Terapeutické koupele ryb – Pokud je prokázána citlivost infekce vůči ošetření KPO, je doporučována koupel o frekvenci 2x denně při použité koncentraci 1 mg.l⁻¹ KPO.

2.5.3.5. Infekce vnímavé k aplikaci KPO

Účinnost ošetření kyselinou peroctovou byla prokázána proti:

- *Ichthyophthirius multifiliis* (Sudová a kol., 2010; Meinelt a kol., 2009; Zusková a kol., 2011)
- *Ichthyobodo necator* (Jaafar a kol., 2013; Zusková a kol., 2011)
- *Saprolegnia parasitica* (Straus a kol., 2012; Zusková a kol., 2011)
- *Flavobacterium columnare* (*in vitro*) (Marchand a kol., 2012)
- *Aphanomyces astaci* (Jussila a kol., 2011)
- *Aeromonas salmonicida* (*in vitro*) (Meinelt a kol., 2015; Wetner-Jeffreys a kol., 2009)
- *Yersinia ruckeri* (*in vitro*) (Meinelt a kol., 2015; Wetner-Jeffreys a kol., 2009)
- *Lactococcus garvieae* (*in vitro*) (Verner-Jeffreys a kol., 2009)
- *Carnobacterium piscicola* (*in vitro*) (Verner-Jeffreys a kol., 2009)
- Infekční anémii lososů (*in vitro*) (Smail a kol., 2004)
- *Lepidotrema bidyana* (Forwood a kol., 2013)
- *Epistylis* sp. (Zusková a kol., 2011)
- *Trichodina* sp. (Zusková a kol., 2011)

- *Chilodonella* sp. (Zusková a kol., 2011)
- *Gyrodactylus* sp. (Zusková a kol., 2011)

2.5.3.6. Vliv KPO na ryby

Informací o vlivu kyseliny peroctové na ryby je poměrně málo, ať už se jedná o testy toxicity na různých druzích ryb, histologická posouzení vlivu různých koncentrací, ale i zjišťování vlivu na hematologické a biochemické ukazatele. Tento stav je ale nejspíše zapříčiněn tím, že KPO je v akvakultuře relativně novinkou, takže lze očekávat, že poznatky o působení na ryby budou zkoumány a dále rozšiřovány.

Při akutním testu toxicity na *Danio rerio* uvádí Marchand a kol. (2013) hodnoty 24hLC50 2,24 – 7,14 mg.l⁻¹ KPO. Rozdíly byly zapříčiněny tvrdostí vody, kdy toxicita negativně korelovala s tvrdostí, ale také byl zjištěn rozdíl mezi různými komerčně dostupnými přípravky, které se lišily poměrem zastoupení KPO a H₂O₂. ECETOC (2001) sumarizoval data z testů toxicity na pstruhu duhovém (*Oncorhynchus mykiss*), z nichž vyplývá, že hodnoty 96LC50 se pohybují v rozmezí 0,91 – 2,0 mg.l⁻¹ KPO, hodnoty NOEC jsou v rozpětí 0,16 – 1,5 mg.l⁻¹ KPO. U sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*) byla pro váčkový plůdek zjištěna hodnota 24hLC50 2,6 mg.l⁻¹ KPO, pro rozplavaný plůdek 48hLC50 1,6 mg.l⁻¹ KPO. Po 24h stanovená hodnota NOEC byla pro váčkový plůdek 2,2 mg.l⁻¹ KPO a pro rozplavaný plůdek 1,3 mg.l⁻¹ KPO což nasvědčuje tomu, že hranice mezi tolerancí a mortalitou vyvolanou KPO může být velmi malá (Straus a kol., 2012a). Meinel a kol. (2007) zaznamenal u candáta obecného (*Sander lucioperca*) narůstající mortalitu se zvyšující se koncentrací KPO ve vodě, kdy po 24h expozici 1,9 mg.l⁻¹ KPO byla mortalita 100%.

Při porovnání vnímavosti vývojových stádií sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*) se prokázalo, že v důsledku vyšší intenzity komunikace s prostředím, vyvolá stejná koncentrace KPO řádově vyšší mortalitu u rozplavaného plůdku než u čerstvě vykulleného embrya. Pro ošetření jiker proti *Saprolegnia* spp. se jako nejvhodnější ukázaly být koncentrace 2,5; 5 a 10 mg.l⁻¹ KPO, při kterých došlo k vykulení více než 60 % ošetřených jiker. Koncentrace 15 a 20 mg.l⁻¹ KPO již neměly efekt na další eliminaci plísňe a znamenaly vyšší resp. úplnou mortalitu ošetřených jiker (Straus a kol., 2012b).

Koncentrace 2,2 mg.l⁻¹ KPO způsobila u sumečka těžkou degeneraci žaberního epitelu, což obecně odpovídá tomu, že žábry ryb jsou pravděpodobně tím

nejzranitelnějším orgánem z hlediska chemické toxicity (Treves-Brown, 2000). Při 48h expozici 1,7 mg.l⁻¹ KPO byly pozorovány degenerativní změny v tkáni ledvin. V důsledku poškození žaber zde došlo k narušení acidobazické rovnováhy. Narušena byla i výměna iontů skrze žaberní aparát, čímž následně mohlo dojít i k poškození ledvin (Straus a kol., 2012a). Chupani a kol. (2014) uvádí, že u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) nebyly po 10denní expozici v 1 mg.l⁻¹ KPO přítomny signifikantní změny sledovaných hematologických parametrů. Na žábrách ryb byly zjištěny histopatologické změny, které byly ale hodnoceny jako mírné a reverzibilní. Zároveň je popisováno ovlivnění antioxidantních enzymů.

Z hlediska cytotoxicity nebyl prokázán účinek na hepatocyty pstruha duhového, nedošlo ani ke zvýšení produkce ROS (reaktivních forem kyslíku) (Ferraris a kol., 2005). Naopak při chronické expozici v nízké koncentraci KPO (0,6 mg.l⁻¹) Villarini a kol. (2011) zaznamenal genotoxický účinek prostřednictvím analýzy žluči, což by naznačovalo již výše zmíněnou možnost vzniku zatím neidentifikovaného meziprojektu s genotoxickou aktivitou. Nicméně v porovnání s dalšími dezinfikanty (chlorin, UV záření a ozon), které spočívalo v ošetření odpadní vody a následné expozici, byla KPO shledána jako nejméně škodlivá látka (Costa a kol., 2014).

Výše uvedené dostupné údaje o toxicitě KPO na ryby ukazují, že terapeutické koncentrace by se měly pohybovat okolo 1 mg.l⁻¹ KPO a pro různé druhy ryb budou pravděpodobně velmi podobné s mírnými rozdíly v řádech desetin mg.l⁻¹ KPO. V případě ošetřování jiker je možné používat koncentrace vyšší, což je jednak dáno tím, že vlastně nedochází k přímému kontaktu zárodku s KPO, ale také i tím, že u jiker se používají krátkodobé koupele.

Obecně lze KPO ve vhodně použitých koncentracích označit za dobře tolerovanou. Při použití vyšších koncentrací je možné pozorovat změny v chování, mírné nechutenství ryb, jde ovšem o změny, které jsou pouze dočasné a odezní během několika dnů (Sirri a kol., 2013; Pedersen a kol., 2009), tudíž souhrnem nebyly zaznamenány změny u produkčních ukazatelů (konverze krmiva, specifická rychlost růstu) v porovnání s kontrolou (Pedersen a kol., 2009).

2.5.3.7. Faktory ovlivňující účinnost KPO

Dalším problémem ve spojitosti s používáním KPO v akvakultuře, na který upozorňuje Marchand a kol. (2013), je fakt, že v případě již provedených testů chybí

informace o chemicko-fyzikálních parametrech vody, které mohou ovlivnit působení KPO ve smyslu toxicity. Níže jsou uvedeny pravděpodobně ty nejdůležitější faktory, které ovlivňují osud KPO ve vodě. Nejde přímo o to, že by při určitých podmínkách byla KPO toxičtější, vzhledem k charakteru sloučeniny se jedná především o rychlost rozpadu po aplikaci do vody.

- Teplota vody – Kunigk a kol. (2001) a Howarth (2003) uvádějí, že čím vyšší teplota, tím je poločas rozpadu kratší.
- Organické zatížení – Vyšší obsah organických látek urychluje rozpad KPO ve vodě (Pedersen a kol., 2009; Liu a kol., 2014), což při vztažení na ryby bude znamenat, že ve vodě s vyšší obsádkou bude klesat účinnost KPO (Pedersen a kol., 2009).
- Salinita – Platí, že se vzrůstající salinitou vody dochází k rychlejšímu rozkladu KPO (Howart, 2003; Liu a kol., 2014; Lafontaine a kol., 2008).
- Obsah iontů ve vodě – Vyšší poměr Na^+ a K^+ oproti Mg^{2+} a Ca^{2+} vede k rychlejšímu rozkladu (Liu a kol., 2014).

Na základě těchto poznatků je třeba zhodnotit aplikované množství KPO do vody, aby bylo bezpečné pro ošetřované ryby, ale zároveň bylo dosaženo efektivní koncentrace (Pedersen a kol., 2009; Pedersen a kol., 2013), která bude mít předpokládané terapeutické nebo dezinfekční účinky. Zároveň je nutné, aby byla dosažena dostatečná doba působení KPO. Z tohoto důvodu je více než vhodné monitorovat obsah KPO ve vodě, což umožní pružně reagovat a tím i zvýšit šanci na úspěšné ošetření (Liu a kol., 2014). Howart (2003) ještě dále zmiňuje, že vliv na stabilitu KPO ve vodě má i iontová rovnováha a přítomnost přechodných kovů. Výše uvedené faktory tedy mohou zapříčinit rozdíl mezi předpokládanou teoretickou koncentrací a koncentrací, které bylo skutečně dosaženo (Pedersen a kol., 2013). Z důvodu již zmíněné nestability KPO je také třeba mít na paměti, že nestačí pouze správně zvolit koncentraci pro ošetření. Samotnému použití KPO by totiž mělo předcházet zjištění aktuální koncentrace naředěného pracovního roztoku z toho důvodu, že v případě dlouhodobějšího skladování, ale i častého používání by mohlo dojít k degradaci KPO v komerčně dostupném přípravku. Pro tento účel Zusková a kol. (2011) doporučuje použití reflektometru, kterým lze zachytit koncentrace od 1 mg.l^{-1} KPO.

Stanovení univerzální dávky KPO pro použití, která bude účinná pro daný typ ošetření, je v zásadě nemožné, protože v každém jednotlivém chovu se mohou výše zmíněné faktory lišit. Doporučené hodnoty je třeba brát jako orientační. Možným způsobem je adekvátní zvýšení dávky, případně použití KPO formou vícenásobné aplikace (Liu a kol., 2014). Potřeba KPO tedy závisí na složení přípravku (různá síla, se značnou variabilitou mezi různými výrobky) a aplikované dávce, stabilitě a parametrech vody daného prostředí (Pedersen a kol., 2009).

2.5.3.8. Opatření při nakládání s KPO

KPO obsažená v přípravku Persteril je klasifikována podle směrnice 1999/45/ES jako nebezpečná (Zusková a kol., 2011). Přímou pro přípravek Persteril[®] 36 jsou v bezpečnostním listu dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 uvedeny klasifikace podle R a S vět. R věty - R 20/21/22, R 35, R 36/38, R 41, R 50. S věty - S 1/2, S 3/7, S 14, S 17, S 20, S 23, S 26, S 28, S 36/37/39, S 45, S 51, S 61 (Proxim, 2014). Mezi nejzávažnější účinky a rizika spojená s nebezpečností přípravku patří (Zusková a kol., 2011):

- Pro životní prostředí je nebezpečný a vysoce toxický pro vodní organismy.
- Zdraví škodlivý při vdechování, styku s kůží a při požití. Způsobuje těžké poleptání.
- V důsledku rozkladu v uzavřených nádobách a zkumavkách vzniká následkem vnitřního přetlaku riziko výbuchu.

2.6. Nejběžnější ektoparazitární onemocnění ryb

Za parazity (cizopasníky) jsou označováni organismy, které žijí na povrchu nebo uvnitř hostitele alespoň po určitou část svého životního cyklu a způsobují poškození hostitele (Barber a Wright, 2005; Ergens a Lom, 1970). Za ektoparazity ryb jsou považováni parazité, kteří se vyskytují především na kůži, žábrách a ploutvích (Ergens a Lom, 1970)

Stejně jako u ostatních onemocnění ryb i u parazitárních onemocnění existují faktory, které podmiňují jejich samotný výskyt a současně míru napadení hostitele. Základem je přítomnost parazita a jeho preference ohledně druhu hostitelské ryby. Existují parazité, kteří jsou označováni jako monoxenní (napadají pouze jeden druh hostitele) a polyxenní (jsou schopni parazitovat na více druzích hostitelů) (Ergens a Lom, 1970; Hoffman a Meyer, 1974). Mezi další faktory patří podmínky prostředí jako teplota, obsah kyslíku, pH vody, proudění vody, přítomnost organického materiálu a další osídlení prostředí faunou a flórou, ve které se mohou vyskytovat mezihostitelé, pro některé parazity nezbytní (Hoffman a Meyer, 1974).

Velmi důležitým faktorem, kterým se zabývá i samotná práce je to, že zhuštěním obsádky v uzavřeném prostoru (např. transport a sádkování ryb) samozřejmě dochází i ke zvýšení koncentrace parazitů, kteří pak následně mohou snadněji napadnout doposud nepostižené jedince. Z toho důvodu některá parazitární onemocnění propukají až po převedení ryb z prostředí (v podmínkách ČR například z rybníku do sádky), ve kterém byly většinu života (Hoffman a Meyer, 1974). Vzhledem k horší autonomii ryb, ve smyslu udržování konstantních tělesných podmínek, může každá změna prostředí vyvolat různě velké oslabení organismu, jehož může být parazity velmi rychle využito k napadení ryb (Ergens a Lom, 1970). Tato situace typicky nastává, při výloveh ryb, kdy jsou ryby vystaveny krátkodobému stresu při manipulaci a následném transportu (Svobodová a kol., 1999).

Obecným předpokladem pro úspěšnou léčbu onemocnění je především identifikace původce (parazita) a znalost jeho biologie, což pak umožňuje provést vhodná léčebná opatření (Ergens a Lom, 1970). Správné určení původce se může jevit jako samozřejmost, ale špatná diagnóza je běžným omylem, který může vyústit ve zvolení nevhodné strategie léčby a z toho plynoucích ztrát ve formě zbytečné práce a vícenákladů na neefektivně použitá léčebná opatření (Klinger a Floyd, 2013).

Způsob boje s parazitárními onemocněními lze rozdělit na klasické způsoby, které zahrnují změnu podmínek prostředí (vytvoření takových podmínek, které parazitům nevyhovují, případně je zlikvidují, např. zvýšení teploty) a použití chemoterapeutik (Ergens a Lom, 1970). Na druhé straně pak existuje poměrně moderní metoda, která spočívá ve vakcinaci proti vybraným parazitům (Vercruyse a kol., 2007). Zároveň je důležité zmínit, že stejně jako u dalších nemocí i u ektoparazitóz je třeba zabránit vzniku takových podmínek, které by snižovaly odolnost organismu (rapidní změny teploty, nedostatečné nasycení O₂, deficitní výživa) (Svobodová a kol., 2007).

2.5.1. Protozoózy

Mezi prvky jsou řazeni jednobuněční živočichové, od mikroskopických velikostí až po ty, které můžeme na rybách pozorovat pouhým okem (Hoole a kol., 2001). Jedná se o parazity s naprosto běžným výskytem, kteří jsou snadno identifikovatelní (Klinger a Floyd, 2013). Mají charakteristické životní cykly, které zahrnují vegetativní stádia, tvorbu cyst, pohlavní i nepohlavní rozmnožování a invazivní stádia, která napadají hostitele (popř. mezihostitele) (Ergens a Lom, 1970).

Nálevníci (*Ciliophora*)

Jde o skupinu prvků, jejichž charakteristickým znakem je přítomnost dvou jader a tělo pokryté brvami (cilie) (Ergens a Lom, 1970). Může jít o (pravé) parazity, např. *Ichthyophthirius multifiliis*, ale i o volně žijící, kteří osidlují povrch těl ryb a řadu dalších organických a neorganických materiálů ve vodním prostředí. Obecně jsou nemoci způsobené nálevníky považovány v chovu kaprovitých za jedny z nejzákladnějších (Hoole a kol., 2001).

***Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet, 1876)**

Tento nálevník způsobuje onemocnění nazývané ichtyoftirióza (Svobodová a kol., 2007), které je v angličtině označované jako White spot disease, případně jako „Ich“. Kožovec je obligátním parazitem, který má téměř celosvětové rozšíření a jeho nespécifita k hostitelským druhům ryb z něj dělá jednoho z nejběžnějších původců protozoálních infekcí (Colorni, 2008), kdy v podmínkách ČR napadá všechny druhy ryb. Za předpokladu silné invaze a zhuštění ryb do malého prostoru je schopen napadat

další jedince. Zvláště citliví jsou pak oslabení jedinci, kteří v důsledku poškození kůže a žaber mohou uhynout (Ergens a Lom, 1970).

Je známo, že ryby jsou schopny si vytvořit odolnost vůči kožovci, která může být získána buďto v důsledku prodělaného napadení, anebo prostřednictvím vakcinace, kdy jsou do těla injekčně vpraveni threonti (Martins a kol., 2011) a tomiti (Burkart a kol., 1990) nebo je k imunizaci použita koupel v lázni se živými threoty (Xu a kol., 2004).

Životní cyklus kožovce je přímý a zahrnuje parazitické a volně žijící stádium. Rozmnožování začíná tehdy, když dospělý trofont opustí hostitele a klesá na substrát, kde probíhá jeho transformace na rozmnožovací cystu – tomonta. Tato enkapsulovaná cysta pak podstupuje několikanásobné dělení, při kterém vzniká 100 až 2000 infekčních stádií – threontů (Hoole a kol., 2001). Po uvolnění z cysty jsou threonti schopni po dobu 2 až 3 dnů aktivně vyhledávat hostitele (Svobodová a kol., 2007). Po jeho nalezení následuje proniknutí do integumentu (Colorni, 2008), kde se transformuje na trofonta, schopného přijímat potravu. V případě nenalezení hostitele dochází k jejich úhynu, který je zapříčiněn vyčerpáním omezených energetických zásob (Hoole a kol., 2001). Celý vývojový cyklus je silně závislý na teplotě, kdy teplota 25 až 26 °C je pro parazita neoptimálnější a rychlost vývoje se pohybuje v řádu několika hodin. Jako hraniční je pak uváděna teplota pod 3 °C a nad 28 °C (Svobodová a kol., 2007). Při překročení těchto teplot dochází k zastavení životního cyklu nebo k úhynu parazita (Hoole a kol., 2001).

Pro léčbu ichtyoftiriózy byla dlouhou dobu běžně používána malachitová zeleň, ale po jejím zákazu, bylo nutné nalézt účinné alternativy k tomuto přípravku (Matthews, 2005; Sudová a kol., 2010). Léčba ichtyoftiriózy se podřizuje životnímu cyklu tohoto ektoparazita, kdy je doporučováno používat antiparazitární koupele pouze v okamžiku, kdy trofonti opouští hostitele. Z používaných látek je mimo jiné uváděna citlivost kožovce na látky, které při reakci ve vodě uvolňují reaktivní formy kyslíku. Případně je možné použít dočasného zvýšení teploty nad 30 °C nebo každodenní přelovování ryb (Svobodová a kol., 2007).

Trichodinózy

Trichodina spp. je skupinou nálevníku, jejichž charakteristickým znakem je ventrální zploštění (Smith a Schwarz, 2009) a při pohledu z boku tvar, který je označován jako kloboučkovitý (Svobodová a kol., 2007). Na ventrální straně těla se nachází adhezivní disk vybavený zoubky, který je důležitým určovacím znakem

jednotlivých druhů (Ergens a Lom, 1970; Gaze a Wootten, 1998). Označení trichodinózy je používáno i u dalších rodů, které jsou si s trichodinou velmi podobné, jedná se o rody *Trichodinella*, *Tripartiella*, *Paratrichodina*, *Hemitrichodina* a *Vauchomia* (Noga, 2000).

Tito nálevníci se nacházejí především na povrchu těla a žábřácích ryb. Nejde přímo o parazity, protože ryby primárně osídlují za účelem získání potravy z okolní vody. K rybě se však fixují specifickým rotačním pohybem, při kterém dochází k mechanickému podráždění a poškození hostitelské tkáně (Ergens a Lom, 1970). V této fázi lze již lzetrichodiny označovat za parazity, protože se živí i rozrušenou tkání hostitele (Svobodová a kol., 2007). Důsledkem napadení je pak hyperplazie (proliferace) epiteliálních buněk, která může narušovat osmoregulační pochody. V případě napadení žaber dochází k poškození respiračního epitelu, což může ovlivnit jejich respirační a exkreční funkci (Smith a Schwarz, 2009).

Pro zdravé ryby nepředstavují závažný problém, protože se na nich obvykle vyskytují ve velmi malém množství. V případě oslabených ryb a vykuleného plůdku mohou při svém silném pomnožení vyvolat takové poškození, které vede až k úhynu (Svobodová a kol., 2007).

K ošetření napadených ryb jsou používány koupele ve formaldehydu, manganistanu draselném a chloridu sodném (Noga, 2000), Toltrazurilu (Schmahl a kol., 1989), Detarox AP® (obsahuje KPO) a Virkon PF® (persůl s obsahem hydrogenperoxosíranu draselného – oxidační činidlo) (Madsen a kol., 2000). Byla ověřována i alternativní léčiva, kdy například El-Galil a kol. (2012) uvádí možnost použití přípravků na bázi česneku.

Ichtyobodóza

Jedná se o jedno z nejrozšířenějších protozoárních onemocnění sladkovodních ryb, které je závažnou hrozbou především při odchovu raných stádií (Svobodová a kol., 2007; Hoole a kol., 2001), kdy při masovém pomnožení může způsobit hynutí (Ergens a Lom, 1970). Původcem tohoto onemocnění je *Ichtyobodo necator* (celosvětově rozšířen) a *Ichtyobodo pyriformes* (Severní Amerika a část Evropy) (Post, 1983). V rámci ČR je uváděno, že se zde vyskytuje pouze *I. necator* (Ergens a Lom, 1970).

Parazit má oválný tvar těla a dosahuje velikosti 10 x 20 μm (Hoole a kol., 2001). Z břišní strany těla vycházejí dva nestejně dlouhé bičíky. V levém okraji těla se nachází zobáčkovitý výběžek, u kterého ústí cytotom, jenž se vysunuje a vysává buněčný obsah

hostitele (Svobodová a kol., 2007) na pokožce nebo žábrách (Post, 1983). *I. necator* způsobuje především podráždění tkání, které má za následek zesílení epidermis s následnými erozemi (Svobodová a kol., 2007) a úbytek ochranného slizu v napadených místech (Post, 1983) v důsledku vymizení hlenových buněk. Silně napadení jedinci pak mohou hynout v důsledku selhání osmoregulace a omezení respirační funkce žaber stejně jako při napadení *Trichodina spp.* (Svobodová a kol., 2007).

Generační cyklus *I. necator* je velmi rychlý, kdy v rozmezí teplotního optima 10 – 25 °C trvá pouze v řádech hodin (Post, 1983). Maximální rozsah teplot, ve kterém ještě parazituje na rybách, je 2 – 30 °C (Svobodová a kol., 2007).

Pro léčbu jsou používány koupele ve formaldehydu, chloridu sodném (Svobodová a kol., 2007), peruhličitanu sodném, KPO (Jaafar a kol., 2013), síranu měďnatém a manganistanu draselném (Farmer a kol., 2013).

Chilonodelóza

Původcem tohoto onemocnění jsou vysoce patogenní nálevníci z rodu *Chilodonella* – *C. piscicola* (taktéž jako *C. cyprini*) a *C. hexasticha* (Noga, 2000), kteří mají velmi širokou valenci ve smyslu napadaných ryb, ale i typech vod, ve kterých se mohou vyskytovat (Svobodová a kol., 2007).

Tvar těla je oválný s délkou 50 – 70 µm (Svobodová a kol., 2007; Hoole a kol., 2001), na ventrální straně se nachází ústní ústrojí s cytostomem (Wiles a kol., 1985), kterým rozrušuje povrch žaber a kůži, kde následně vysává obsah epiteliálních buněk. Důsledkem tohoto poškození je nekróza a zvýšená tvorba slizu, zároveň jsou ryby více vnímavé vůči sekundárním infekcím (Hoole a kol., 2001).

Teplotní rozsah, ve kterém jsou chilodonely aktivní, je velmi široký (5 – 24 °C), kdy k největšímu pomnožení dochází při teplotě 5 – 10 °C, což v podmínkách ČR dělá z chilodonelózy nákazu vyskytující se především na konci zimy po komorování ryb (Svobodová a kol., 2007).

Pro léčbu napadených ryb se používají koupele ve formalínu, manganistanu draselném, kyselině octové a chloridu sodném (Noga, 2000).

2.5.2. Helmintózy

Jako helmitózy je označována skupina endo- i ektoparazitických červů, kteří mimo ptáků a vodních živočichů napadají i ryby, které v jejich životním cyklu mohou figurovat jako konečný hostitel nebo mezihostitel (Svobodová a kol., 2007).

Monogenózy

Třída *Monogenoidea* zahrnuje jedny z nejmenších parazitických červů, kteří jsou charakterističtí podlouhlým tělem, bilaterálně souměrným. K přichycení na hostitele jim slouží adaptovaný hlavový konec a přichytný disk – haptor, který je důležitým rozlišovacím znakem mezi jednotlivými zástupci (Ergens a Lom, 1970). Převážně jde o ektoparazity, které lze u ryb najít na pokožce, žábrách a v ústní dutině (Svobodová a kol., 2007). Často jde o parazity, kteří napadají pouze jeden druh hostitele (Post, 1983). Mezi nejznámější zástupce patří rody *Dactylogyrus* a *Gyrodactylus* (Svobodová a kol., 2007).

Do rodu *Dactylogyrus* patří druhy, parazitující na žábrách kaprovitých ryb (Ergens a Lom, 1970). V místě přichycení dochází k poškození žaberní tkáně, které může vést až k nekróze a opadávání žaberních lístků. Další změny jsou vyvolány i v okolí přichycení, kde dochází k zesílení epitelu a slepování žaberních lístků. Tato poškození pak zmenšují aktivní respirační plochu žaber (Svobodová a kol., 2007). Stejně jako u dalších parazitů, i u monogeií obecně platí, že napadení menším množstvím jedinců nezpůsobuje příliš závažné problémy (Post, 1983). U původních druhů *D. vastator* a *D. extensus*, které cizopasí na plůdku kapra a jsou považovány za velmi nebezpečné, uvádí Svobodová a kol. (2007), jako kritický počet parazitů (pohlavně dospělých jedinců) při napadení plůdku kolem 140 – 160 u *D. vastator* a 20 – 30 u *D. extensus*.

Teplotní optimum *D. vastator* je 22 °C, z čehož lze usuzovat, že největší výskyt bude v průběhu letních měsíců. *D. extensus* má teplotní optimum položené mezi 16 a 17 °C, kdy nejvyšší výskyt lze tedy očekávat před začátkem léta a s nástupem podzimu. V rámci rodu *Dactylogyrus* jsou ještě zmiňovány druhy, které jsou považovány za introdukované. Jedná se o *D. macracanthus*, *D. lamellatus*, *D. hypophthalmichthys* a *D. nobilis* (Svobodová a kol., 2007).

K terapii při napadení zástupci z rodu *Dactylogyrus* lze použít koupele ve formaldehydu, kuchyňské soli, praziquantelu, levamizolu a toltrazurilu. Ale je třeba mít na paměti, že se jedná o vejcorodé parazity, na jejichž vajíčka nejsou koupele účinné.

Z tohoto důvodu je doporučeno ošetření formou koupele opakovat (Svobodová a kol., 2007).

Parazité z rodu *Gyrodactylus* se vyskytují na kůži a žábrách u kaprovitých, lososovitých a okounovitých ryb, ale také i na štice. Mezi nejčastější druhy, které napadají kapra, patří *G. katharinei* a *G. sprostonae*. Následky napadení těmito parazity jsou podobné těm u rodu *Dactylogyrus*, kdy opět platí, že raná stádia jsou mnohem citlivější (Svobodová a kol., 2007). Tento viviparně se rozmnožující rod je také charakteristický rychlostí reprodukce, kdy Noga (2000) uvádí čas potřebný ke vzniku nové generace menší než 24 hodin. Zároveň, právě díky viviparii, může docházet k tomu, že nová generace neosídluje další jedince, ale ihned napadá původního hostitele (Post, 1983).

Pro léčbu jsou doporučovány stejné koupele jako u rodu *Dactylogyrus*, případně ještě Noga (2000) uvádí použití chloraminu T (Noga, 2000). Vzhledem k tomu, že jde o živorodé parazity, lze očekávat, že léčba výše zmíněnými přípravky bude účinnější než u vejcorodých monogei (Svobodová a kol., 2007).

Hirunideózy

Nemoci způsobené pijavkami (*Hirunidea*) postihují ryby v rybníčních chovech, ale i ve volných vodách (Svobodová a kol., 2007). Jedná se o kroužkovce (*Annelida*), kteří mají dlouhé štíhlé tělo a jsou schopni aktivně vyhledávat hostitele (Post, 1983), na kterého se přichycují pomocí přísavek. Přední přísavka je zároveň vybavena sacím ústrojím, umožňujícím pijavce proniknout skrze povrchové tkáně a sát krev. Nejznámějším zástupcem je *Piscicola geometra* (Svobodová a kol., 2007).

Opět platí, že starší ročníky ryb jsou poměrně odolné, za předpokladu, že se nejedná o přísátí několika set pijavek na jednoho jedince. Ale v případě raných stádií ryb, zvláště pak těch se slabou kůží, může způsobit úhyn již několik kusů přísátých pijavek (Svobodová a kol., 2007). Další nebezpečí v napadení pijavkami je v tom, že při jejich přísátí může zároveň dojít k přenosu krevních bičíkovců, kteří se vyskytují v jejich sacím a trávicím ústrojím (Svobodová a kol., 2007; Hoole a kol., 2001).

Pro terapii ryb v rybníku je možné použít ošetření modrou skalicí, ale v rámci tohoto opatření je také důležité dezinfikovat rybníční dno, likvidovat litorální vegetaci a další místa, která slouží pijavkám jako úkryt a substrát pro vajíčka. Vhodnější je provést ošetření formou koupele v rámci manipulace s rybami. Pro toto použití je doporučována koupel v lyzolu nebo chloridu sodném (Svobodová a kol., 2007).

2.5.3. Artropodózy

Toto označení je používáno pro nemoci způsobené korýši (*Crustacea*) (Svobodová a kol., 2007), kteří jsou sice primárně vodními organismy, kdy část z nich tvoří více či méně podstatnou složku výživy ryb, ale zároveň několik druhů má parazitický způsob života a jedná se o ektoparazity (Hoole a kol., 2001).

Argulóza

Tato parazitóza je způsobena korýši (*Crustacea*) z řádu kapřivců (*Branchiura*) (Ergens a Lom, 1970) je považována za vůbec nejrozšířenější artropodózu parazitující na rybách (Svobodová a kol., 2007). Kapřivci mají dorzoventrálně zploštělé tělo oválného tvaru (Ergens a Lom, 1970) s délkou několika milimetrů (Svobodová a kol., 2007). Charakteristickým znakem jsou dvě nápadná očka na hlavě a „ocasní ploutvička“ (Ergens a Lom, 1970).

Celkově se uvádí, že celosvětově se vyskytuje více než 100 druhů kapřivců (Hoole a kol., 2001). V oblastech ČR se vyskytují druhy *Argulus japonicus*, *A. coregoni*, a *A. foliaceus* (Svobodová a kol., 2007), cizopasí na pokožce, ploutvích a žábrách (Post, 1983), kde se prostřednictvím svého sacího ústrojí živí krví a tělními tekutinami (Svobodová a kol., 2007), což následně způsobuje poškození tkání, které v konečném důsledku zvyšuje vnímavost ryb k sekundárním infekcím (Yildiz a Kumantas, 2002).

Aktivita kapřivců je podmíněna teplotou vody, teplotní optimum uvádí Hoffman (1977) kolem 28 °C. Teplota vody pod 8 °C způsobí zastavení vývoje a hibernaci přímo na rybách (Svobodová a kol., 2007). Dalšímu rozvoji kapřivců pak také nahrávají faktory jako vysoká hustota obsádek, nízký obsah kyslíku ve vodě a pomalé proudění.

Léčba argulózy je stejně jako u dalších onemocnění způsobených korýši poměrně obtížná, je třeba se zaměřit na optimalizaci prostředí (Post, 1983) a zároveň zlepšení kondičního stavu příkrmováním. Ošetření napadených ryb lze provést koupelemi v kuchyňské soli a lyzolu (Svobodová a kol., 2007).

2.5.4. Mykózy

Nemoci ryb způsobené houbami (*Fungi*), které jsou charakteristické nepohyblivostí, získáváním živin z mrtvého nebo živého organismu a svojí všudypřítomností ve vodním prostředí, patří mezi jedny z nejrozšířenějších (Hoole a kol., 2001).

Saprolegnióza

Pod tímto označením jsou zahrnuta povrchová zaplísnění ryb, jejichž původci jsou ze třídy oomycet (*Oomycetes*), u nichž se předpokládá, že pravděpodobně každá sladkovodní ryba je vnímavá k napadení zástupci jednotlivých řádů (*Saprolegniales*, *Leptomitales*, *Peronosporales*). Nejčastěji se u ryb vyskytují plísňe z čeledi *Saprolegniaceae* s rody *Saprolegnia* a *Achlya* (Noga, 2000), kdy vlastní onemocnění jsou nejčastěji způsobena druhy *Saprolegnia parasitica* a *Achlya hoferi* (Svobodová a kol., 2007).

Povrchové zaplísnění ryb obvykle není primární onemocnění, jde o sekundární oportunistické patogeny (Yanong, 2003), které se uchytí v místech, kde došlo k mechanickému poškození tkání – obvykle se jedná o kůži a žábry. Na poškozených místech dochází k vyrůstání plísňových vláken, která se postupně množí, následně dochází k přerůstání i na jinak zdravou a nepoškozenou tkáň. Ryby pak hynou na celkovou sešlost (Svobodová a kol., 2007).

Pro léčbu jsou používány koupele ve formalínu, u jiker je možné použít metylenovou modř a peroxid vodíku (Noga, 2000).

Branchiomykóza

Onemocnění je stejně jako saprolegnióza způsobeno oomycetami, kdy se jedná druhy *Branchiomyces sanguinis* a *B. demigrans*. Branchiomykóza se vyskytuje na většině kontinentů a napadá široké druhové spektrum ryb. Z názvu je patrné, že toto onemocnění se vyskytuje na žábrách, kde způsobuje nekrotické změny tkáně (Goodwin, 2012). Při pohledu na napadené žábry pak lze pozorovat typické mramorování a opadávání žaberních lístků (Svobodová a kol., 2007).

Plísňová nákaza žaber je závažným onemocněním v chovu kapra. Vyskytuje se především při teplotě vody nad 20 °C (Svobodová a kol., 2007) a celkově zhoršené kvalitě vody (organické zatížení, amoniak) (Goodwin, 2012).

Léčba resp. prevence tohoto onemocnění spočívá především v aplikaci vápna (CaO) na vodu a zkvalitnění celkového managementu rybníků (likvidace porostů, nepoužívání hnojení v rizikovém období, vyšší průtok vody) (Svobodová a kol., 2007).

3. Metodika

3.1. Posouzení stability KPO ve vztahu k organickému zatížení vody a její teplotě

Materiál a pomůcky

- vzorky vody – destilovaná a vodovodní voda, vzorky vody z rybníků Hánovec, Březinka a Topělecký;
- Persteril 36 (fy. EuroŠarm)
- Vzorkovnice, pipety, teploměr, vodní lázeň chlazená ledem, kádinky
- přístroje a zařízení – Kombi souprava, Reflectoquant®

Vzorky vody z výše zmíněných rybníků byly odebrány 24. 9. 2014 vždy v blízkosti výpustního zařízení, popsány a uloženy do termoboxu. Objem odebrané vody u každého vzorku byl 3 litry. Následně byly vzorky převezeny do laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie, kde byly provedeny rozborů vody. Stanovily se hodnoty $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $P_{\text{celk.}}$, CHSK_{Mn} a BSK_5 metodami podle Horákové a kol. (1986).

Zásobní roztok KPO byl připraven z přípravku Persteril 36 a destilované vody. Postupovalo se podle Zuskové a kol. (2011), kdy bylo napipetováno 0,28 ml Persterilu 36 a doplněno destilovanou vodou na objem 100 ml. Tímto ředěním byl připraven roztok o koncentraci 1 mg KPO v 1 ml.

Z každého odebraného vzorku rybníční vody a z vodovodní vody byl odměřen 2x 1 l. Následně byly vzorky temperovány na nižší teplotu (11 – 15 °C) v lázni s vodou chlazené ledem a vyšší (21 °C – teplota v laboratoři). Jako počáteční koncentrace ve všech sledovaných vzorcích bylo zvoleno 6 mg.l^{-1} KPO, tudíž do každého vzorku se odpipetovalo 6 ml z připraveného zásobního roztoku

Ihned po přidání KPO do vzorků vody byla změřena koncentrace KPO pomocí reflektometru Reflectoquant® (čas 0). Poté byla koncentrace KPO měřena celkem 6x v hodinových intervalech (časy 1;2;3;4;5;6), po dalších 6 hodinách (čas 12) a při ukončení testu po dalších 11 hodinách. Test tedy celkem trval 23 h.

3.2. Testy v podmínkách rybářství Blatná s.r.o.

3.2.1. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb

Materiál a pomůcky

- Persteril 36 (fy. EuroŠarm)
- Automatická pipeta, vědro, metr

Pokusy probíhaly v rámci běžného provozu rybářství Blatná s.r.o. během výlovů v roce 2014. Celkem byly provedeny 3 testy na různých věkových kategoriích kapra obecného (K₁, K₂, K₃). Pokus s K₂ byl proveden v květnu, s K₁ a K₃ v říjnu v rámci podzimních výlovů na středisku Sedlice.

Design pokusu

Vlastní postup byl u každého pokusu stejný, kdy v rámci přepravy ryb z místa výlovu na sádky byla zároveň provedena koupel v KPO na přepravních bednách. Na nákladním automobilu byly vždy 4 přepravní bedny o objemu 1,8 m³ naplněné přibližně do 1/3 vodou ze sádek v Rojčicích. Pro usnadnění měření množství vody v dané přepravní bedně byla vždy změřena hladina běžným metrem a následně se dopočítal objem vody v přepravní bedně. Poté se dopočítalo potřebné množství Persterilu 36, tak, aby v daném objemu vody v přepravní bedně byla dosažena koncentrace 1,5 mg.l⁻¹. Napipetovaný Persteril 36 byl aplikován do vědra s vodou, kde byl rozmíchán, takto připravený roztok byl přelit do přepravní bedny a opětovně rozmíchán. Stejný postup byl proveden i u druhé přepravní bedny. Třetí a čtvrtá bedna byly kontrolní, takže ryby byly přepravovány pouze ve vodě napuštěné ze sádek. Množství přepravovaných ryb na jednu bednu bylo u K₁ 92 kg (průměrná kusová hmotnost 46 g), u K₂ 300 kg (průměrná kusová hmotnost 410 g), K₃ 500 kg ryb (průměrná kusová hmotnost 1220 g). Při žádném pokusu nebyla v průběhu přepravy použita oxygenace vody v transportních bednách.

Po ukončení přepravy bylo z každé bedny odebráno 10 ryb. Tedy 20 ryb ošetřených KPO a 20 ryb z kontrolní skupiny. Ty pak byly osobním automobilem přepraveny v barelech do laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie FROV JU, kde bylo provedeno parazitární vyšetření.

Vyšetření ryb

Pomůcky a materiál

- Odebrané vzorky ryb
- Pítevní souprava, táč
- Mikroskop, podložní a krycí skla, destilovaná voda

V laboratoři byly ryby vyšetřovány podle postupu Svobodové a kol. (2007):

- Zevní ohledání;
- Usmrcení úderem do hlavy;
- Provedení stěrů z těla vždy ve stejném místě a ze stejné plochy;
- Příprava preparátů pro mikroskopické vyšetření;
- Analýza stěru se současnou identifikací přítomných ektoparazitů a následným kvantitativním zhodnocením;
- Odstřížení žaberního víčka a odebrání stěrů a vzorků ze žaber;
- Příprava preparátu;
- Identifikace a kvantitativní zhodnocení parazitů ve stěru;

Hodnocení napadení ryb parazity

Pro hodnocení intenzity jednotlivých napadených kusů se použilo čtyř stupňů, kdy stupeň číslo 0 byl v případě nepřítomnosti parazita v preparátu, 1 – přítomnost maximálně tří jedinců v preparátu. Stupeň číslo 2 byla přítomnost 4 až 10 parazitů. Stupeň číslo 3 odpovídal nálezu více než 10 jedinců. Zároveň byla hodnocena prevalence – tedy přítomnost sledovaných parazitů v preparátu. Vždy byl prohlížen celý preparát. Fotodokumentace z vyšetření viz obrázek č. 1 a 2 a přílohy č. 1 a 2.



Obrázek č. 1: Vyšetřované ryby (foto Alžběta Stará).



Obrázek č. 2: Mikroskopické vyšetřování preparátů (foto Alžběta Stará).

3.2.2. Test účinnosti KPO proti *Saprolegnia parasitica* a parazitárnímu napadení u kapra

Pomůcky a materiál

- Mikroskop a pomůcky k mikroskopování
- Persteril 36 (fy. EuroŠarm), automatická pipeta, vědro
- Kádě, vzduchování, síť proti vyskočení ryb

Dvě kádě o celkovém objemu 500 l byly napuštěny na objem 400 l vodou ze sádek v Rojicích, do obou kádí bylo zavedeno provzdušňování dmychadly. Celkem 100 ks ryb kategorie K₂ (průměrná kusová hmotnost 460 g) s jasně zřetelným povrchovým zaplísněním bylo rozděleno po 50 kusech. 10 ryb bylo před aplikací KPO parazitárně vyšetřeno. V první pokusné kádí byla připravena koupel v KPO o koncentraci 1,5 mg.l⁻¹ ve formě Persterilu 36, druhá kádě byla ponechána bez aplikace jako kontrolní. Kádě byly zajištěny sítí proti vyskočení ryb v průběhu pokusu.

Koupele celkem trvaly 4 dny, kdy do pokusné kádě byl vždy 2x denně (v 7:00 a 19:00) přidáván přípravek s obsahem KPO tak, aby bylo dosaženo terapeutické koncentrace 1,5 mg.l⁻¹. V průběhu testu byly průběžně odstraňovány uhynulé ryby. Po 4 dnech byla vyhodnocena celková mortalita, zároveň bylo u ryb z pokusné skupiny provedeno patologické a parazitární vyšetření.



Obrázek č. 3: Koupel ryb (foto Eliška Zusková).

3.2.3. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období

Materiál a pomůcky

- Persteril 36 (fy. EuroŠarm)
- Peristaltická pumpa Tekna, automatická pipeta, barel na zásobní roztok, odstátá vodovodní voda

Pokus probíhal během května a června 2014 na sádkách v Rojicích. Pro pokus byla vybrána násada kapra (průměrná kusová hmotnost 565 g), která byla v důsledku delšího sádkování a časté manipulace značně oslabená. Ryby byly rozděleny po 100 kusech do dvou betonových sádek o rozměru 870 x 220 cm (obrázek č. 5). Výška vody v sádce byla vyhrazena na 60 cm, celkový objem vody byl 11,5 m³. Ryby byly před začátkem testu aklimatizovány v sádkách po dobu jednoho týdne. Sádky byly vybaveny horním stříkem, kterým přitékalo přibližně 0,3 l.s⁻¹ po celou dobu pokusu.

Dne 23.5. byla do pokusné sádky prvně aplikována KPO ve formě Persterilu 36. Dávka KPO byla přepočtena na objem vody v sádce, aby bylo dosaženo koncentrace 1 mg.l⁻¹ v celém objemu vody. Na přítok pokusné sádky byla nainstalována peristaltická pumpa Tekna, která ve dvouhodinových intervalech (celkem 7 dávek od 7 do 19 hodin) přidávala zásobní roztok připravený v barelu (viz. obrázek č. 4) o koncentraci 25 mg KPO v 1 ml o objemu dávky 230 ml. Tato dávka přepočtená na objem vody v sádce byla 0,5 mg.l⁻¹. Kontrolní sádka byla ponechána pouze na průtoku zdrojové vody. V průběhu 14ti denní aplikace byly odstraňovány uhynulé ryby, zároveň bylo sledováno chování ryb. Po ukončení testu byla vyhodnocena mortalita a z každé sádky bylo parazitologicky vyšetřeno 10 kusů ryb.



Obrázek č. 4: Instalace peristaltické pumpy na přítok sádky (foto Eliška Zusková).



Obrázek č.5: Pohled na pokusné sádky (foto Eliška Zusková).

3.3. Statistické vyhodnocení výsledků

Grafy s ubýváním KPO a vyhodnocením mortalit v pokusech byly vytvořeny v softwaru Microsoft Excel.

Ubývání KPO bylo ověřováno v softwaru Statistica 12, kde byla použita ANOVA s opakovaným měřením na hladině významnosti $p = 0,05$. V ANOVĚ byla porovnávána kontrola (destilovaná a pitná voda společně) s vodou rybniční (3 vzorky společně) v obou teplotních režimech. Zároveň bylo provedeno porovnání kontroly ve vyšším teplotním režimu s nižším teplotním režimem a stejným způsobem i vzorky rybniční vody z vyššího a nižšího teplotního režimu.

Prevalence parazitů u vyšetřovaných skupin ryb byla ověřována Chí-kvadrát testem (CHITEST) v softwaru Microsoft Excel na hladině významnosti $p = 0,05$.

4. Výsledky

4.1. Posouzení stability KPO ve vztahu k organickému zatížení vody a její teplotě

Výsledky rozboru vzorků vod jsou uvedeny v tabulce č. 1. Na jejich základě je možné tvrdit, že měření koncentrace KPO prokázala vliv zatížení organickými látkami na rychlost rozkladu KPO aplikované ve formě Persterilu 36. Při statistickém vyhodnocení byl v obou teplotních režimech zjištěn signifikantní ($p < 0,05$) rozdíl mezi vzorky kontroly a rybníční vody. Zároveň byly patrné rozdíly v rychlosti rozkladu KPO mezi teplotními režimy u jednotlivých vzorků, které jsou uvedeny v přílohách č. 3 – 7. Nicméně ty nebyly statisticky vyhodnoceny jako signifikantní ani v jednom případě.

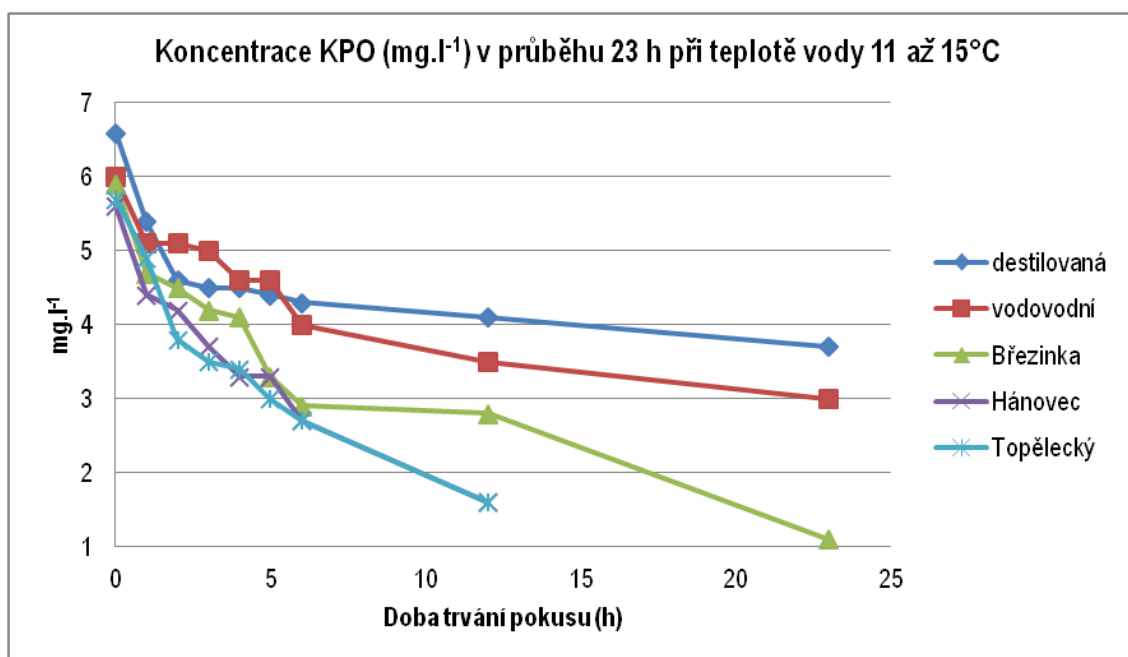
V pokusu s nižším teplotním režimem u destilované a vodovodní vody došlo v průběhu prvních třech hodin k poklesu koncentrace KPO o 17 a 25 %. U vzorků rybníční vody byl úbytek KPO mnohem výraznější – 30 až 40 %. Další měření 6 hodin po aplikaci ukázalo, že KPO byla ve všech vzorcích rybníční vody stále rozkládána, kdy oproti počáteční koncentraci byl pokles více než 50%. Měření po 23 hodinách ukázalo, že ve vzorcích vody z rybníků Hánovec a Topělecký byla koncentrace KPO již pod hranicí stanovitelnosti použité metody. Ve vzorku vody z rybníka Březinka byla zjištěná koncentrace KPO těsně nad 1 mg.l^{-1} . Celkově tedy došlo k 82% úbytku KPO. U destilované a vodovodní vody byl posledním měřením zjištěný celkový úbytek KPO 44 a 50 %. Znárodnění průběhu rozkladu KPO během pokusu je v grafu č. 1.

U pokusu s vyšším teplotním režimem byla u všech vzorků rybníční vody po 6 hodinách zjištěná koncentrace KPO pod hranicí 3 mg.l^{-1} , kdy u rybníka Hánovec byla dokonce již pod hranicí 2 mg.l^{-1} . U destilované a vodovodní vody byly naměřené koncentrace jen nepatrně odlišné od pokusu s nižším teplotním režimem. Další měření po 12 hodinách od přidání KPO do vzorků ukázalo, že v případě vody z rybníků Hánovec a Topělecký došlo k poklesu koncentrace KPO pod 1 mg.l^{-1} . U vzorku z rybníka Březinka byl celkový úbytek KPO v čase 12 oproti počáteční koncentraci 73%. Po 23 hodinách byla naměřená koncentrace u rybníka Březinka již pod hranicí 1 mg.l^{-1} . Celkový pokles koncentrace KPO počítaný z posledních detekovatelných měření byl u vzorku Březinka 73 % (čas 12), Hánovec 72 % (čas 6), Topělecký 58 % (čas 6). U vzorků destilované a vodovodní vody došlo k poklesu koncentrace KPO od

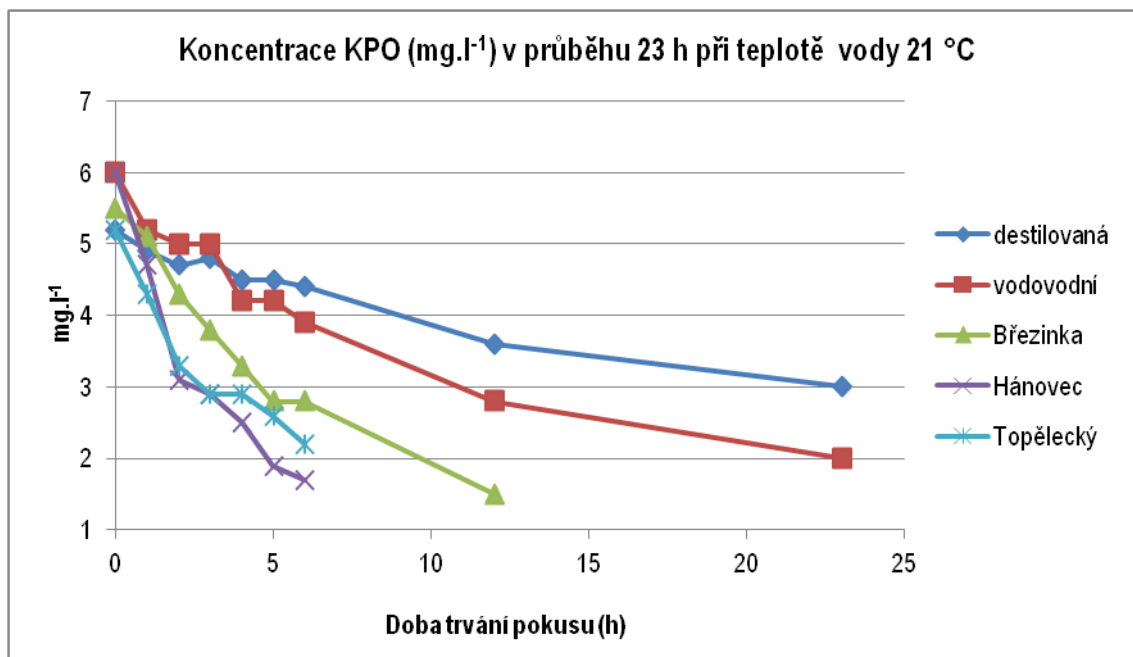
měření po 12 hodinách o méně než 1 mg.l^{-1} . Celkový pokles vyjádřený v procentech byl 42 a 67 %. Znárodnění průběhu rozkladu KPO během pokusu je v grafu č. 2.

Tabulka č. 1: Výsledky rozboru vody vzorků použitých pro test s rozkladem KPO.

Vzorek vody	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg.l^{-1})	$\text{P}_{\text{celk.}}$ (mg.l^{-1})	CHSK_{Mn} (mg.l^{-1})	BSK_5 (mg.l^{-1})
vodovodní	< 0,02	0,1	0,6	-
Topělecký r.	0,32	0,37	15,7	16,8
Hánovec r.	0,33	0,25	17,3	15,4
Březinka r.	0,37	0,27	18,9	17,1



Graf č. 1: Vývoj úbytku KPO při nižším teplotním režimu ($11 - 15^\circ\text{C}$). U rybníků Hánovec a Topělecký byla poslední detekovatelná koncentrace změřena v čase 12.



Graf č. 2: Vývoj úbytku KPO při vyšším teplotním režimu (21 °C). U rybníků Hánovec a Topělecký byla poslední detekovatelná koncentrace změřena v čase 6, u rybníka Březinka v čase 12.

4.2. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb

Kategorie K₁

Na kůži ryb došlo ke značnému úbytku počtu parazitů *Trichodina* spp. a především *Apiosoma* spp., které se projevilo snížením stupně napadení. Z hlediska prevalence nebyly zaznamenány žádné signifikantní rozdíly. U *Gyrodactylus* spp. a *Argulus* spp. byly hodnocené ukazatele v obou skupinách nízké a téměř identické pro obě skupiny (tabulka č. 2). Statistické porovnání neprokázalo signifikantní rozdíly, a tudíž u těchto parazitů nelze hovořit o léčebném efektu KPO.

Vyšetření žaber ryb (tabulka č. 3) prokázalo poměrně silné napadení parazity *Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp. u kontrolní skupiny. U ošetřené skupiny ryb bylo zaznamenáno signifikantní ($p < 0,05$) snížení stupně intenzity napadení *Trichodina* spp. Zároveň došlo ke snížení prevalence. V případě výskytu *Apiosoma* spp. byl u ošetřené skupiny paradoxně prokázán ještě vyšší stupeň napadení než u kontroly. Parazit *Gyrodactylus* spp. byl prokázán na žábrách obou skupin ve stejném stupni napadení, prevalence byla téměř totožná, tudíž statistické porovnání neprokázalo signifikantní vliv KPO na napadení žaber ryb tímto parazitem. Napadení kapřivcem bylo primárně natolik nízké, že stejně jako u žabrohlístů nebyl prokázán statistický rozdíl. Žabrohlíst *Dactylogyrus* spp. byl nalezen pouze u několika jedinců v ošetřené skupině.

Kategorie K₂

Stupeň napadení kůže ektoparazity těchto ryb byl u obou sledovaných skupin velmi nízký, jak je uvedeno v tabulce č. 2. Patrný rozdíl byl zaznamenán pouze v 50% snížení prevalence *Trichodina* spp. v pokusné skupině v porovnání s kontrolou. Tento rozdíl ale nebyl statisticky vyhodnocen jako signifikantní.

Napadení žaber parazity *Gyrodactylus* spp. a *Eudiplozoon niponicum* bylo primárně nízké u obou skupin (tabulka č. 3). Rozdíl byl zaznamenán pouze u stupně napadení *Trichodina* spp., kdy v pokusné skupině došlo ke snížení. Statistickým vyhodnocením nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v prevalenci u žádného z nalezených parazitů.

Kategorie K₃

Tato věková kategorie měla na kůži nález pouze dvou parazitů - *Trichodina* spp. a *Gyrodactylus* spp. U obou z nich došlo v ošetřené skupině k úplné eliminaci, tudíž i intenzita napadení byla hodnocena stupněm nula (tabulka č. 2). Statistické vyhodnocení pak prokázalo, že u obou nalezených parazitů došlo v pokusné skupině k signifikantní ($p < 0,05$) redukci prevalence.

Na žábřácích poloviny ryb z kontrolní skupiny byla zaznamenána poměrně silná intenzita napadení *Trichodina* spp. Ošetřená skupina vykázala signifikantní ($p < 0,05$) snížení intenzity napadení. U žábrohlistů *Gyrodactylus* spp. a *Dactylogyrus* spp. nebyly zaznamenány žádné statisticky významné rozdíly mezi ošetřenou a neošetřenou skupinou ryb. Výsledky vyšetření žaber jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Při celkovém zhodnocení získaných výsledků ze všech parazitárně vyšetřených ryb je zřejmé, že byly napadeny především protozoálními parazity, u kterých byl ve dvou případech (*Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp.) zaznamenán statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi neošetřenou a ošetřenou skupinou. Zároveň bylo dosaženo redukce stupně intenzity napadení těmito parazity.

U ostatních parazitů šlo o znatelně nižší intenzity napadení, kdy nejvyšší hodnota byla 1,5 s prevalencí obvykle do jedné poloviny vyšetřených jedinců. Statistickým vyhodnocením byl v jednom případě (*Gyrodactylus* spp.) zaznamenán signifikantní ($p < 0,05$) rozdíl mezi ošetřenou a neošetřenou skupinou ryb. KPO lze tedy podle výsledků pokusů s aplikací během transportu ryb považovat za efektivní pouze proti protozoálním parazitům.

Tabulka č. 2: Hodnoty parazitární prevalence a průměrné intenzity napadení na kůži vyšetřených ryb. Aritmetický průměr intenzity napadení byl počítán ze stupňů 1 až 3, ryby se stupněm 0 nebyly zahrnuty. Statisticky významné ($p < 0,05$) rozdíly v prevalenci jsou značeny hvězdičkou (*).

Věková kategorie	Název parazita	Intenzita napadení (směr. odch.)		Prevalence v %	
		Kontrola	Pokus	Kontrola	Pokus
K ₁	<i>Trichodina</i> spp.	2,2 (± 0,748)	1,2 (± 0,415)	100	90
	<i>Apiosoma</i> spp.	2,8 (± 0,711)	1,1 (± 0,314)	90	90
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1	1	10	10
	<i>Argulus</i> spp.	1	0	10	0
K ₂	<i>Trichodina</i> spp.	1	1	60	30
	<i>Ichthiophthirius</i> m.	1	0	10	0
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1	1	40	50
K ₃	<i>Trichodina</i> spp.	2,1 (± 0,862)	0	60	0*
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1	0	20	0*

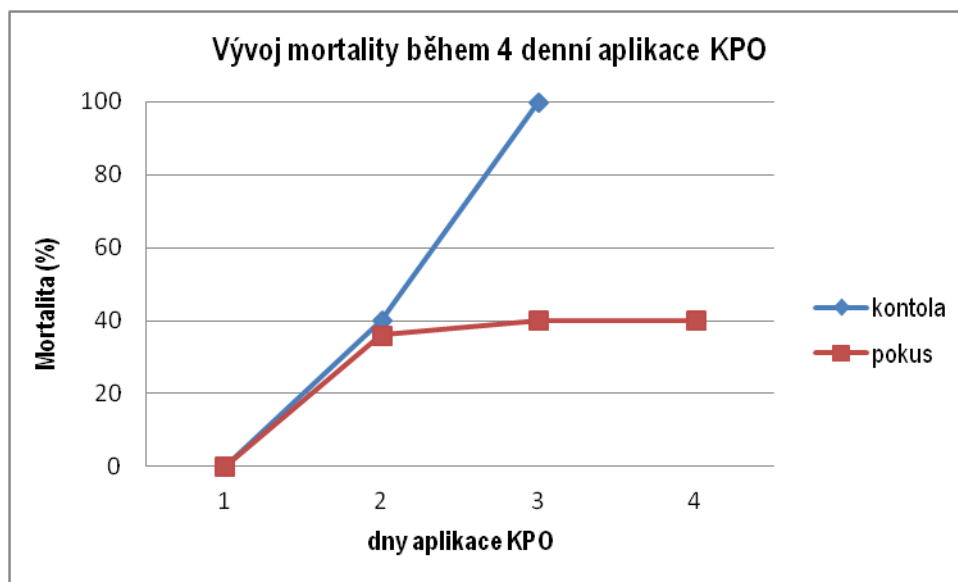
Tabulka č. 3: Hodnoty parazitární prevalence a průměrné intenzity napadení na žábrách vyšetřených ryb. Aritmetický průměr intenzity napadení byl počítán ze stupňů 1 až 3, ryby se stupněm 0 nebyly zahrnuty. Statisticky významné ($p < 0,05$) rozdíly v prevalenci jsou značeny hvězdičkou (*).

Věková kategorie	Název parazita	Intenzita napadení (směr. odch.)		Prevalence v %	
		Kontrola	Pokus	Kontrola	Pokus
K ₁	<i>Trichodina</i> spp.	2,3 (± 0,869)	1	90	40*
	<i>Apiosoma</i> spp.	2,4 (± 0,663)	3 (± 0,577)	50	30
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1,3 (± 0,433)	1,3 (± 0,471)	40	30
	<i>Dactylogyrus</i> spp.	0	1	0	30
K ₂	<i>Trichodina</i> spp.	1,8 (± 0,711)	1	90	80
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1	1	30	20
	<i>Eudiplozoon</i> n.	1	1	30	20
K ₃	<i>Trichodina</i> spp.	2,2 (± 0,6)	1,4 (± 0,494)	50	30
	<i>Gyrodactylus</i> spp.	1,3 (± 0,64)	1,5 (± 0,5)	50	60
	<i>Dactylogyrus</i> spp.	1,3 (± 0,471)	1,2 (± 0,372)	60	60

4.3. Dlouhodobá koupel v KPO proti *Saprolegnia parasitica*

Během prvního dne pokusu nedošlo k žádné mortalitě ryb. Ale ihned po nasazení ryb do kádí bylo možné pozorovat malátnost ryb, útlum únikových reflexů a jejich zdržování těsně pod hladinou, což odpovídalo chování, které bylo pozorované už při držení ryb v sádce před jejich nasazením do testu. U kontrolní skupiny byly tyto příznaky pozorovány po celou dobu testu. Naopak u ošetřované skupiny ryb bylo s postupem pokusu možné pozorovat úbytek ryb, které vykazovaly výše zmíněné abnormality chování. U ošetřené skupiny bylo po 24 hodinách od začátku testu možné pozorovat opadávání plísňových nárostů z ryb a jejich hromadění ve vodním sloupci.

Z hlediska průběhu mortality nebyl během prvního dne pokusu zaznamenán žádný úhyn. Druhý den ráno byl již u obou sledovaných skupin, zaznamenán výrazný úhyn, který v případě pokusné skupiny dosáhl svého maxima po 48 hodinách od začátku pokusu, kdy po dalších 24 hodinách došlo k úhynu pouze několika kusů ryb. U kontrolní skupiny byl úhyn po 48 hodinách od aplikace srovnatelný s pokusnou skupinou. V průběhu třetího dne pokusu úhyn v kontrole nadále pokračoval a při kontrole ryb v 19.00 hodin již v neaplikované skupině nezůstala žádná živá ryba. Celkový průběh mortality během pokusu je patrný z grafu č. 3.



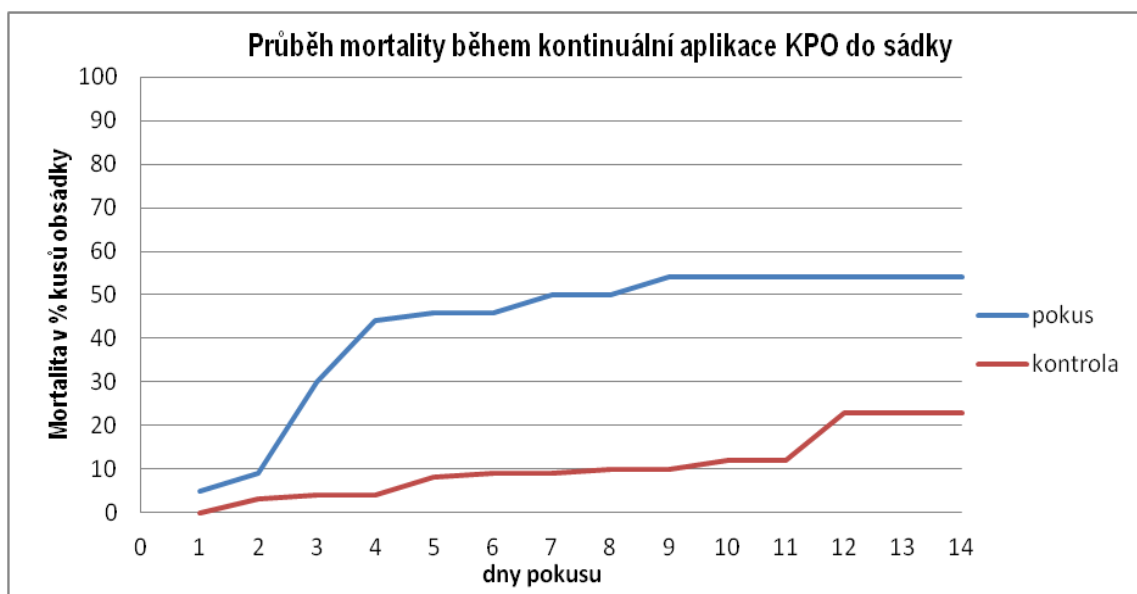
Graf č. 3: Průběh mortality v průběhu pokusu u obou skupin ryb.

Parazitárním vyšetřením kontrolní skupiny (těsně před začátkem testu), byl zjištěn velmi silný stupeň napadení *Trichodina* spp., *Ichtyobodo necator* a *Gyrodactylus* spp., zároveň byla zjištěna 100% prevalence těchto parazitů. Vyšetření ryb z pokusné skupiny na konci testu ukázalo, že bylo dosaženo téměř 100% eliminace parazitů, kdy byl zaznamenán pouze pozitivní nález *Gyrodactylus* spp. u 2 jedinců.

4.4. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období

Již při nasazování ryb do sádek před aklimatizací bylo na většině ryb patrné, že mají četná povrchová zranění na hlavě a těle, taktéž bylo velmi časté poškození ploutví, což bylo dáno dlouhodobějším pobytem na sádkách a opakovaným tříděním. V průběhu aklimatizační periody postupně uhynulo celkem 6 kusů ryb z kontrolní a 4 kusy z pokusné skupiny. Před začátkem testu byly sádky doplněny o tyto uhynulé ryby, aby počáteční nasazení v každé sádce bylo 100 kusů. Z hlediska chování nebyly zaznamenány výrazné změny, pouze několik ryb v obou sádkách se zdržovalo u hladiny.

Po aplikaci iniciační koncentrace KPO do pokusné sádky bylo možné pozorovat změnu chování ryb. Kapři vykazovali poruchu rovnováhy, nekoordinovaně plavali a shromažďovali se u stříku do sádky. K úhynům začalo v pokusné skupině docházet již 24 hodin od první aplikace. Nejvyšší mortalita byla zaznamenána třetí a čtvrtý den, kdy uhynulo 21 a 14 kusů ryb. U ryb ze třetího dne pokusu bylo po odchlípení skřelového víčka patrné makroskopické poškození žaber. Po zbytek testu byly úhyny u pokusné skupiny v rámci jendotek kusů. Od devátého dne až do konce testu pak nebyla zaznamenána žádná mortalita. Celkové výsledky průběhu mortality z pokusné i kontrolní skupiny jsou znázorněny v grafu č. 4.



Graf č. 4: Vývoj mortality v průběhu pokusu s kontinuální aplikací KPO do sádky.

Parazitologické vyšetření na konci testu prokázalo přítomnost třech druhů parazitů u kontrolní i pokusné skupiny. Celkové výsledky parazitárního vyšetření ryb po ukončení pokusu s kontinuální aplikací KPO jsou uvedeny v tabulce č. 5 a 6. Vzhledem k průběhu pokusu nebylo provedeno statistické vyhodnocení výsledků.

Tabulka č. 5: Hodnoty parazitární prevalence (%) a průměrné intenzity parazitárního napadení na kůži vyšetřených ryb.

Název parazita	Intenzita napadení		Prevalence v %	
	Kontrola	Pokus	Kontrola	Pokus
<i>Trichodina</i> spp.	1,3	1,3	60	60
<i>Ichtyophthirius</i> m.	1,6	1,5	60	30
<i>Gyrodactylus</i> spp.	1,8	1,6	100	80

Tabulka č. 6: Hodnoty parazitární prevalence (%) a průměrné intenzity parazitárního napadení na žábřácích vyšetřených ryb.

Název parazita	Intenzita napadení		Prevalence v %	
	Kontrola	Pokus	Kontrola	Pokus
<i>Trichodina</i> spp.	1,8	1	90	20
<i>Ichtyophthirius</i> m.	1,3	0	60	0
<i>Gyrodactylus</i> spp.	1	1	70	20

5. Diskuze

5.1. Test rychlosti rozkladu KPO ve vodě s různým organickým zatížením a teplotou

Základním předpokladem pro ošetření ryb koupelí je vystavení ryb dostatečně vysoké, lépe řečeno účinné koncentraci léčebné látky po dostatečně dlouhou dobu. Tyto dva faktory je třeba zajistit u ošetření ryb jakoukoliv látkou. V případě testované KPO, která patří mezi oxidující látky, kdy ve vodě působí atomární kyslík, který je následně měněn na molekulární – terapeuticky i dezinfekčně neúčinný (Kolářová a Svobodová, 2009), je prokázáno, že se stoupajícím organickým zatížením vody dochází k rychlejšímu rozkladu (Pedersen a kol., 2009; Liu a kol., 2014). Základní analýza vzorků ukázala, že stanovené parametry jsou v rozmezí běžného chemismu rybníčních vod v ČR, které uvádí Hartman a kol. (2009). Vodovodní voda měla naprosto minimální organické zatížení a destilovaná voda žádné. Výsledky ukázaly, že i minimální organické zatížení vodovodní vody hraje roli v rychlosti rozkladu KPO, kdy se konečné naměřené koncentrace mezi destilovanou a vodovodní vodou lišily o 0,7 (nižší teplotní režim) a 0,8 mg.l⁻¹ KPO (vyšší teplotní režim), což potvrzuje i údaje uváděné v literatuře (Kunigk a kol., 2001; 2012).

Tato skutečnost tedy byla prokázána v obou teplotních režimech pokusu, kdy v případě vzorků vody, které lze považovat za kontrolní (destilovaná a vodovodní voda), nedošlo po 23 hodinách od přidání do vody k úplnému rozkladu aplikované dávky. V případě nižšího teplotního režimu byl při posledním měření vzorků vody z rybníku Hánovec a Topělecký zjištěn pokles koncentrace pod hranici detekovatelnosti (< 1mg.l⁻¹). U vzorku Březinka byla při posledním měření zjištěna koncentrace těsně nad hranicí detekovatelnosti (1,1 mg.l⁻¹ KPO). Nelze tedy tvrdit, že na konci testu byl výrazný rozdíl mezi vzorkem Březinka a dalšími vzorky rybníční vody, jelikož použitá metoda pro stanovení KPO nebyla schopná detekovat koncentrace pod 1mg.l⁻¹. Z tohoto důvodu má větší vypovídací hodnotu měření po 12 hodinách od aplikace, kdy byla ve vzorku Březinka naměřena koncentrace KPO o 1,2 mg.l⁻¹ vyšší než u zbylých vzorků rybníční vody. Při porovnání výsledků měření úbytku KPO u vzorků rybníční vody v obou teplotních režimech nebyla nalezena souvislost mezi detekováním vyšší koncentrace u vzorku Březinka a zjištěnými parametry při rozboru vody. To ukazuje, že

existují další fyzikálně chemické parametry vody, které ovlivňují rychlost rozkladu KPO.

Ve vzorcích rybníční vody došlo ve vyšším teplotním režimu k poklesu koncentrace pod polovinu původní dávky po 4 h (Hánovec a Topělecký) a po 5 h (Březinka). Je tedy třeba uvažovat tak, že poloviční koncentrace bylo dosaženo mezi měřeními po 3 a 4 hodinách (Hánovec a Topělecký), 4 a 5 hodinách (Březinka). U nižšího teplotního režimu došlo ve všech vzorcích rybníční vody k poklesu koncentrace KPO pod 3 mg.l^{-1} mezi měřeními po 5 a 6 hodinách. Při vztažení těchto výsledků na aplikaci KPO za účelem ošetření koupele ryb je nejdůležitější zjištění, že je možné do 5 hodin od přidání očekávat, že daná koncentrace klesne na polovinu. Z toho plyne, že v případě dlouhodobých koupelí je naprosto nezbytné KPO průběžně dodávat. Zároveň je ale více než vhodné koncentraci KPO průběžně monitorovat. Jednak je totiž možné, že i přes dodatečné přidávání KPO nebude stále dosaženo terapeutické koncentrace, která je podle Zuskové a kol., (2011) 1 mg.l^{-1} .

V případě aplikace KPO do organicky zatížené vody (s organickým zatížením vody je nutno při koupelích ryb v provozu zcela jistě počítat) a při vyšší teplotě, je nutno po 3 až 5 hodinách očekávat výrazný (téměř poloviční) pokles koncentrace KPO. Abychom koncentraci udrželi na požadované výši, je třeba KPO do lázně dodávat alespoň v 20% výši původní dávky ve 3 až 5 hodinových intervalech podle teploty vody. Samozřejmě, ideálním řešením by bylo mít k dispozici kit na stanovení KPO a její koncentraci v lázni průběžně kontrolovat.

5.2. Krátkodobé koupele v KPO při transportu ryb

5.2.1. Kategorie K₁

U této kategorie bylo parazitární osídlení nejsilnější. Ryby z kontrolní skupiny byly na kůži poměrně masivně infikovány protozoálními parazity (*Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp.), zároveň byla zjištěna prevalence u téměř všech vyšetřených ryb, lze tedy usuzovat, že velmi podobná situace byla i u celé obsádky loveného rybníka. V případě *Trichodina* spp. by vzhledem ke zvýšené citlivosti mladších věkových kategorií ryb mohlo po výlovu a následném přesazení do komor dojít k dalšímu rozvoji napadení a tím i ohrožení obsádky. Tato skutečnost by mohla být nadále zhoršena tím, že pro trichodiny je optimálnější nižší teplota vody (Svobodová a kol., 2007). KPO se ukázala účinná pouze ve smyslu redukce intenzity napadení, ale nedošlo k úplné eliminaci parazita. Je tedy možné, že u takto ošetřených ryb by došlo k opětovné reinfekci. Nicméně efekt KPO lze hodnotit jako pozitivní.

U žaber byl stupeň infekce u kontroly téměř identický s kůží, tedy napadení lze opět hodnotit jako poměrně silné. Obdobná situace byla i v prevalenci tohoto parazita. Porovnání kontroly a ošetřené skupiny prokázalo zřejmý pokles intenzity a zároveň došlo k více než poloviční redukci prevalence. Efekt ošetření KPO v rámci stupně intenzity, ale především v prevalenci byl tedy silnější u žaber sledovaných ryb.

Při porovnání s jinými pokusy je zřejmé, že na úplnou eliminaci trichodin byla použitá koupel nedostatečná, kdy Sudová a kol. (2010) dosáhla mnohem lepších výsledků při kontinuální aplikaci po dobu 4 dnů. Nicméně cílem tohoto ošetření bylo právě ověřit koupel během přepravy, takže dlouhodobější koupel nepřipadala v úvahu a ani by nebyla vzhledem k přepravě možná. Alternativou by ale bylo kompenzování krátké doby ošetření zvýšením koncentrace KPO. Existuje zde sice riziko, že by mohlo být dosaženo koncentrací, které by již mohly působit toxicky, ale zároveň je třeba vzít v úvahu, že se jedná o velké množství ryb, což značně ovlivňuje rychlost rozkladu KPO (Pedersen a kol., 2009). Dalším faktorem, který mohl zapříčinit nepříliš velkou účinnost KPO byl právě poměrně vysoký stupeň intenzity napadení, kdy je možné uvažovat, že v případě nižšího výskytu by mohlo být dosaženo lepších výsledků zejména u prevalence.

U *Apiosoma* spp. šlo o masové napadení plůdku kapra, které je podle Svobodové a kol. (2007) spojené se špatnou kondicí plůdku, případně se zhoršenou kvalitou vody (Svobodová a kol., 2007). Léčebný efekt KPO se projevil pouze na kůži, kde došlo u

ošetřené skupiny k výraznému snížení intenzity napadení kůže, ale na úplnou eliminaci ve smyslu nulové prevalence neměla koupel účinek. Na žábrách pokusné skupiny ryb bylo zjištěno velmi silné napadení. Zajímavé je ale to, že šlo pouze o několik jedinců, kdy v porovnání s napadením kůže byly infikovány téměř všechny vyšetřené ryby. Vzhledem k nepřítomnosti *Apiosoma* spp. u dalších věkových kategorií je obtížné hodnotit zjištěnou neúčinnost KPO při napadení žaber.

U parazita *Gyrodactylus* spp. byl stupeň napadení i prevalence natolik nízké, že nebylo možné vyhodnotit, jestli KPO měla vliv na jeho eliminaci. Na základě výsledků parazitárního osídlení žábrolísty u dalších věkových kategorií, lze ale usuzovat, že daný způsob ošetření byl neúčinný. Podobná situace nastala i u *Argulus* spp., kdy byla infekce naprosto nepatrná, a u dalších věkových kategorií nebyl nalezen. Při vyšším stupni napadení je možné, že by nebyl zaznamenán žádný léčebný efekt, jelikož provedené krátkodobé koupele prokázaly účinnost KPO pouze proti protozoálním parazitům.

5.2.2. Kategorie K₂

Tato kategorie měla u všech nalezených parazitů na kůži nízký stupeň napadení. Jediným znatelným pozitivním efektem bylo snížení prevalence *Trichodina* spp. u ošetřené skupiny o polovinu oproti kontrole, což ale nebylo statisticky významné. Zároveň je možné částečně potvrdit již zmíněnou domněnku, že při nižší intenzitě napadení může být účinek KPO na snížení prevalence znatelnější. U kožovce bylo napadení v kontrole natolik nízké, že ho nebylo možné nijak porovnat s ošetřenou skupinou. *Gyrodactylus* spp. měl sice nízký stupeň intenzity napadení, ale prevalence již byla taková, aby se mohl projevit případný vliv KPO na eliminaci tohoto parazita. Vyšetření ošetřené skupiny ale neukázalo žádnou změnu oproti prevalenci v kontrole. Při porovnání výsledků s dalšími publikacemi opět vyvstává předpoklad toho, že daný způsob koupele mohl být nedostatečný jak v množství aplikované KPO, tak i v délce ošetření. Sudová a kol. (2010) popisuje 100% eliminaci *Gyrodactylus* spp. po kontinuální aplikaci KPO po dobu 4 dní. Stejně tak Németh a kol. (2013) popisuje úspěšnou eliminaci tohoto parazita při použití přípravku Detox (4,5 % KPO, 10 % kys. octové a 20 % H₂O₂) ve formě 3x opakované aplikace do lázně s 0,5 % NaCl po dobu 2 týdnů. Stejně jako u kategorie K₁ lze navrhnout zvýšení použité koncentrace KPO pro koupel v průběhu přepravy.

Vyšetření žaber ukázalo, že došlo k poklesu stupně intenzity napadení u *Trichodina* spp., ale u prevalence nebyl prokázán signifikantní vliv koupele v KPO. To odpovídá dosaženým výsledkům u kategorie K₁, kdy se v dané koncentraci projevil vliv KPO, ale nebyl natolik silný, aby došlo k úplné eliminaci tohoto parazita.

U *Gyrodactylus* spp. a *Eudiplozoon nipponicum* nebyl na rybách zjištěn masivní výskyt, čemuž i odpovídá nízký stupeň napadení u kontroly, nicméně léčebný efekt KPO se při tomto napadení již mohl projevit. Ošetřená skupina ryb ale nevykázala signifikantní snížení prevalence ani u jednoho ze zmíněných parazitů nalezených na žábrách. Podobných výsledků s neúčinností KPO proti těmto parazitům dosáhl i Šebesta (2014). V případě potřeby řešení infekce žábrolísty bude tedy vhodnější použít krátkodobou koupel ve formaldehydu (Svobodová a kol., 2007), případně praziquantelu (Schmahl a Mehlhorn, 1985).

5.2.3. Kategorie K₃

Na kůži této věkové kategorie, byl zaznamenán největší účinek KPO. Došlo k úplné eliminaci *Trichodina* spp., což bylo vzhledem k intenzitě napadení a výsledkům dosaženým u tohoto parazita u mladších kategorií poněkud překvapivé. Stejně tak došlo k úplné eliminaci *Gyrodactylus* spp., což se u předchozích kategorií nedařilo. Vysvětlení tohoto účinku je vzhledem k výsledkům u kategorií K₁ a K₂ poměrně obtížné. Možným faktorem, který by mohl výrazně ovlivnit účinnost KPO, je organické zatížení vody (Pedersen, 2009) použité pro přepravu ryb, která pocházela ze sádek v Rojicích. Za předpokladu, že tedy organické zatížení bylo nižší, než u skupiny K₁ lovené na podzim. To by pak mohlo způsobit, že se KPO rozkládala pomaleji, tím pádem došlo k působení vyšší koncentrace. V úvahu by připadala i nižší teplota vody, ve které se KPO pomaleji rozkládala, nicméně vzhledem k výsledkům pokusu s rozkladem by muselo jít o rozdíl kolem 10 °C, což lze jednoznačně vyloučit.

Na žábrách bylo prokázáno stejně jako u ostatních kategorií napadení *Trichodina* spp., kdy lze říct, že stupně intenzity výskytu na jedincích se mezi všemi vyšetřenými rybami v rámci pokusu s aplikací KPO v průběhu přepravy příliš nelišily. Vliv KPO se projevil v poklesu stupně intenzity napadení, ale prevalence nebyla snížena ani na polovinu, statisticky šlo o nesignifikantní změnu. U obou druhů žábrolístů nebyl prokázán žádný efekt KPO na snížení stupně intenzity napadení, ale ani na snížení prevalence.

Celkově lze koupele v průběhu přepravy zhodnotit jako účinné pro boj s protozoálními parazity (*Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp.), kdy ve většině případů došlo alespoň k snížení stupně intenzity napadení. U dalších nalezených parazitů (*Gyrodactylus* spp., *Dactylogytus* spp., *Argulus* spp., *Ichthiophthirius m.*, *Eudiplozoon nipponicum*) KPO neměla terapeutický účinek. Problém neúčinnosti KPO u těchto parazitů byl pravděpodobně v krátkém působení příliš nízké dávky. Jak již bylo zmíněno, tak prodloužení času expozice je nemožné vzhledem k tomu, že jde o pokus, který je ověřován pro použití v praxi. Možným řešením by bylo adekvátní navýšení koncentrace aplikované KPO, což by mohlo být z použitých 1,5 mg.l⁻¹ na 2,5 – 3 mg.l⁻¹. Koncentrace kolem 2 mg.l⁻¹ jsou již v testech toxicity hodnoceny jako letální (Meinelt a kol., 2007; Straus a kol., 2012b), ale je třeba si uvědomit, že jde o expozice, které trvají 24 a více hodin, které jsou prováděny ve vodě s minimálním organickým zatížením. Naopak v průběhu přepravy jde v závislosti na místních podmínkách o expozici v rozmezí 1 – 2 hodin. Zároveň se pro transport používá voda, která jistě vykazuje určitý stupeň organického zatížení, ale také je třeba počítat s tím, že v relativně malém objemu vody se přepravují jednotky stovek kilogramů ryb, což dále zvyšuje organické zatížení, které prokazatelně urychluje rozklad KPO (Pedersen a kol., 2009; Liu a kol., 2014).

5.3. Dlouhodobá koupel v KPO proti *Saprolegnia parasitica*

Průběh mortality v tomto testu byl do druhého dne identický, což lze zdůvodnit tím, že necelých 40 % ryb, které uhynuly v pokusné skupině, byly natolik napadeny plísní, že uhynuly na celkovou sešlost organismu. Důležitým faktem je, že v pokusné skupině nedošlo k vyšší mortalitě, která by v průběhu pokusu dále narůstala. To by mohlo naznačovat, že takto silně oslabené ryby by byly ještě navíc ohroženy působením KPO.

Opadání plísněvých nárostů po 24 hodinách naznačuje, že pro eliminaci *S. parasitica* je postačující dvakrát provedená aplikace KPO do vody s napadenou obsádkou, což potvrzují i výsledky práce Marchanda a kol. (2012), který při *in vitro* pokusech zaznamenal účinnost KPO proti *S. parasitica*. Na základě pozorované účinnosti KPO již po dvou dávkách (iniciační a další dávka v 19.00) by bylo možné interval mezi aplikacemi zkrátit na 6 hodin. Riziko dosažení toxických koncentrací je možné vyloučit díky již prokázanému rychlému rozkladu, který byl pravděpodobně dále urychlen použitím aerace (Pedersen a kol., 2013).

Dlouhodobé ošetření ryb s doplňováním KPO prokázalo vysokou účinnost KPO proti plísní a ektoparazitům, lze jej tedy jednoznačně doporučit. Eliminace nalezených ektoparazitů, která byla s výjimkou nálezu *Gyrodactylus* spp. 100% jasně indikuje, že tento způsob ošetření je velmi vhodný i u těžce napadených ryb. Dobré výsledky dlouhodobých koupelí proti různým parazitům taktéž popisuje Németh a kol. (2013) a Sudová a kol. (2010). V případě porovnání s ošetřením v průběhu přepravy se tento způsob jeví jako mnohem účinnější, na druhou stranu je ale třeba zvážit časovou a prostorovou náročnost tohoto typu koupele ryb. Toto ošetření by ale mohlo najít využití v případě léčby menšího množství těžce napadených ryb.

5.4. Testování kontinuální aplikace KPO na násadě kapra v průběhu sádkování během letního období

Z hlediska vyšetření parazitů je téměř nemožné vyvodit závěry z rozdílů mezi kontrolní a pokusnou skupinou, jelikož v průběhu testu došlo k expozici obsádky v koncentracích, které mnohonásobně převyšovaly zamýšlenou dávku.

Vysoká mortalita byla s největší pravděpodobností zapříčiněna nerovnoměrnou distribucí KPO ve vodním sloupci. O toxickém působení svědčila úniková reakce ryb, zároveň bylo možné identifikovat viditelné poškození žaber. Tyto změny pak vyvolaly další oslabení již tak poškozených ryb. Největší zaznamenané úhyny (3. a 4. den) byly pravděpodobně tvořeny rybami, které se ihned po aplikaci iniciální dávky dostaly do prostoru s nejvyšší koncentrací KPO, čemuž nasvědčovalo i výše zmíněné poškození žaber. V dalších dnech pokusu byly úhyny spíše sporadické, kdy se mohlo jednat o méně poškozené ryby první dávkou KPO na začátku testu. Následné udržování terapeutické dávky KPO pomocí peristaltické pumpy již bylo až do konce testu bez masového úhynu ryb.

Nekontrolovaným přidáváním KPO také mohlo dojít k postupnému předávkování, kdy KPO bude v počátku reagovat s organickými látkami a mikroorganismy ve vodě, kdy bude docházet k postupnému odbourávání KPO. Postupně by ale mohlo dojít ke snížení intenzity rozkladu KPO a další přidávání KPO by mohlo vést navýšení koncentrace účinné látky, která by už mohla být pro ošetřovanou obsádku škodlivá. Nicméně v případě tohoto pokusu je pravděpodobnější, že došlo k nedokonalému pormísení KPO v celém objemu vody.

Pro zamezení podobného ohrožení obsádky je naprosto nezbytné dokonalé promísení KPO v celém objemu vody, aby se zamezilo vzniku takzvaných „hot spots“. U menších sádek by mohlo být dostatečným opatřením použití silněji naředěného, čímž by se snížilo riziko aplikace vyšší škodlivé koncentrace do jednoho místa. U sádek běžné velikosti (desítky až stovky m³) by bylo vzhledem k objemu vody velmi rizikové aplikovat KPO přímo mezi ryby. Možností je aplikovat KPO do vydatného přítoku, kdy dojde k rychlému naředění. Další alternativa je aplikace KPO do jen z části napuštěné sádky bez ryb, kdy následným dopuštěním vody na běžnou hladinu dojde k dostatečnému naředění a promíchání KPO v celém objemu vody. V případě problémů s vystavením obsádky vysoké koncentraci KPO je samozřejmě třeba zvýšit přítok vody do sádky, aby došlo k většímu naředění. Jako podpůrné opatření je možné použít aerace vody, která urchluje rozklad KPO (Pedersen a kol., 2013).

V provozu je tento způsob ošetření možný, ale je třeba zvýšené opatrnosti a zohlednit výše zmíněná doporučení, jelikož jsou ošetřovány velké objemy ryb se značnou ekonomickou hodnotou.

6. Závěr

Základním předpokladem antiparazitárních koupelí ryb je vystavení takové koncentraci a době působení látky, která zajistí spolehlivou eliminaci parazita. Získané výsledky pokusu s rozkladem KPO ukázaly, že v případě běžně organicky zatížené rybníční vody dojde poklesu pod polovinu iniciální koncentrace po 3 až 5 hodinách od aplikace. Z toho plyne, že v případě krátkodobého šetření by se neměl vyskytovat problém s výraznějším poklesem koncentrace KPO. Naopak při ošetřování formou dlouhodobých koupelí bude naprosto nezbytné provádět doplňování KPO, protože jenom tak bude možné po delší dobu udržet koncentrace, které budou terapeuticky účinné.

Prostorem pro další výzkum ohledně rozkladu KPO po aplikaci do vodního prostředí by mohlo být především nalezení vztahu s organickým zatížením vody (CHSK_{Mn} a BSK_5), za účelem možnosti alespoň částečně odhadnout rychlost rozkladu.

Koupele ryb prokázaly, že KPO lze použít jako poměrně účinnou alternativu k stávajícím antiparazitikům. Pokusy s aplikací v průběhu přepravy ryb byly efektivní proti protozoálním parazitům (*Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp.). U dalších sledovaných parazitů, zejména helmintů, lze hovořit spíše o neúčinnosti KPO. Tento problém, který je rozveden v diskuzi, byl pravděpodobně způsoben rezistencí těchto parazitů nebo nízkou dávkou spolu s krátkodobou expozicí KPO. Tento způsob lze tedy s jistým omezením doporučit především pro obsádky napadené protozoálními parazity. Zároveň je možné uvažovat o adekvátním zvýšení koncentrace.

Dlouhodobá koupel v KPO vykázala mnohem lepší výsledky, což bylo na podkladě výsledků podobných studií očekávané. Došlo k úspěšné eliminaci povrchového zaplísnění ryb, zároveň je důležité zmínit, že tento způsob ošetření byl efektivní proti parazitům, které nebylo možné úplně eliminovat formou krátkodobé koupele v průběhu přepravy ryb (*Trichodina* spp., a *Gyrodactylus* spp.). Je ale třeba zvážit především časovou a prostorovou náročnost dlouhodobé koupele. Nicméně tato koupel by mohla najít své uplatnění v léčbě především těžce zaplísněných ryb a také při jejich masivním napadení ektoparazity citlivými vůči KPO.

7. Přehled použité literatury

- Alderman, D.J., 2009. Control of the use of veterinary drugs and vaccines in aquaculture in the European Union. In: Rogers C., Basurco B. (Ed.). The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Zaragoza: CIHEAM, (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86): 13 – 28.
- Alvaro, J.E., Moreno, S., Dianez, F., Santos, M., Carrasco, G., Urrestarazu, M., 2009. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. *Journal of Food Engineering*, 95: 11 – 15.
- Ashley, P.J., 2007. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104: 199 – 235.
- Athanassopoulou F., Pappas I.S., Bitchava K., 2009. An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. In: Rogers C., Basurco B. (Ed.). The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Zaragoza: CIHEAM, (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86): 65 – 83.
- Baldwin, L., 2010. The effects of stocking density on fish welfare. *The Plymouth Student Scientist*, 4 (1): 372 – 383.
- Barber, I., Wright, H.A., 2005. Effects of parasites on fish behavior: Interactions with host physiology. In: Sloman, K.A., Wilsom, R.W., Balshine, S., (Eds.). *Behaviour and Physiology of Fish: Volume 24*: 109 – 149.
- Barg, U., Lavilla-Pitogo, C.R., 1996. The Use of Chemicals in Aquaculture: A Summary Brief of Two International Expert Meetings. *FAO Aquaculture Newsletter - December 1996 - No.14*.
- Bauer, K., Dangschat, H., Knoppler, H.O., Neudegger, J., 1988. Uptake and elimination of malachite green in rainbow trout (in German). *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 39: 97 – 102.
- Bauermeister, L.J., Bowers, J.W., Townsend, J.C., McKee, S.R., 2008. Validating the efficacy of peracetic acid mixture as an antimicrobial in poultry chillers. *Journal of Food Protection* 71 (6): 1119 – 1122.
- Block, S.S., 2001. Peroxygen Compounds. In: Block, S.S. (Ed.), *Disinfection, sterilization, and preservation, Fifth Edition*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 185 – 204.

- Booth, R.A., Lester, J.N., 1995. The potential formation of halogenated by-products during peracetic acid treatment of final sewage effluent. *Water Research*, 29: 1793 – 1801.
- Burkart, M.A., Clark, T.G., Dickerson, H.W., 1990. Immunization of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque, against *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet): killed versus live vaccines. *Journal of Fish Diseases*, 13 (5): 401 – 410.
- Burridge, L., Weis, J., Cabello, F., Pizarro, J., 2008. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306 (1-4): 7 – 23.
- Burridge, L., Weis, J.S., Cabello, F., Pizarro, J., Bostick, K., 2010. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306: 7 – 23.
- Colorni, A., 2008. Diseases caused by Ciliophora. In: Eiras, J., Segner, H., Wahli, T. (Eds.), *Fish Diseases Volume 1*. Science Publishers, pp. 569 – 612.
- Costa, J.B., Rodgher, S., Daniel, L.A., Espíndola, E.L.G., 2014. Toxicity on aquatic organisms exposed to secondary effluent disinfected with chlorine, peracetic acid, ozone and UV radiation. *Ecotoxicology*, 23: 1803 – 1813.
- Costello, M.J., Grant, A., Davies, I.M., Cecchini, S., Papoutsoglou, S., Quigley, D., Saroglia, M., 2001. The control of chemicals used in aquaculture in Europe. *Journal of Applied Ichthyology*, 17: 173 – 180.
- Coyle, S.D., Durborow., R.M., Tidwell, J.H., 2004. *Anesthetics in Aquaculture*. Southern Regional Aquaculture Center publication No. 3900
- Crebelli, R., Conti, L., Monarca, S., Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C., Veschetti, E., Cutilli, D., Ottaviani, M., 2005. Genotoxicity of the disinfection by-products resulting from peracetic acid- or hypochlorite-disinfected sewage wastewater. *Water Research*, 39: 1105 – 1113.
- Defoirdt, T., Sorgeloos, Bossier, P., 2011. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current Opinion in Microbiology*, 14: 251 – 258.
- Dell’Erba, A., Falsanisi, D., Liberty, L., Notarnicola, M., Santoro, D., 2007. Disinfection by-products formation during wastewater disinfection with peracetic acid. *Desalination*, 215: 177 – 186.
- ECETOC - European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2001. Peracetic Acid (CAS No. 79-21-0) its Equilibrium Solutions. JACC No. 40.

- Eiras, J., Segner, H., Wahli, T., 2008. Fish Diseases Volume 1. Science Publishers, 612 s.
- El-Galil, A.M.A., Aboelhadid, S.M., 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. *Veterinary Parasitology*, 185 (2 – 4): 57 – 63.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 61: 493 – 531.
- Ergens, R., 1962. Direct Control Measures for Some Ectoparasites of Fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 24 (3): 133 – 134.
- Ergens, R., Lom, J., 1970. Původci parazitárních nemocí ryb. Academia Praha, Československá akademie věd, 384 s.
- Evonik, 2015. Dostupné online: [cit. 24. 4. 2015] <http://peracetic-acid.evonik.com/product/peraceticacid/en/about/pages/default.aspx>
- FAO, 1997. Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture. Reports and Studies, GESAMP. No. 65. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 40 s.
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture – Opportunities and challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 223 s.
- Farmer, B.D., Straus, D.L., Beck, B.H., Mitchell, A.J., Freeman, D., Meinelt, T., 2013. Effectiveness of copper sulphate, potassium permanganate and peracetic acid to reduce mortality and infestation of *Ichthyobodo necator* in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque 1818). *Aquaculture Research*, 44: 1103 – 1109.
- Faruk, M.A.R., Sarker, M.M.R., Alam, M.J., Kabir, M.B., 2004. Economic Loss from Fish Diseases on Rural Freshwater Aquaculture of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7 (12): 2086 – 2091.
- Ferraris, M., Chiesara, E., Radice, S., Giovana, A., Frigerio, S., Fumagalli, R., Marabini, L., 2005. Study of potential toxic effects on rainbow trout hepatocytes of surface water treated with chlorine or alternative disinfectants. *Chemosphere*, 60: 65 – 73.
- Finnegan, M., Linley, E., Denyer, S.P., McDonnell, G., Simons, C., Maillard, J.Y., 2010. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65: 2108 – 2115

- Forwood, J.M., Harris, J.O., Deveney, M.R., 2013. Efficacy of current and alternative bath treatments for *Lepidotrema bidyana* infecting silver perch, *Bidyanus bidyanus*. *Aquaculture*, 416 – 417: 65 – 71.
- Francis-Floyd, R., 1990. Stress - Its Role in Fish Disease. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Circular 919.
- Francis-Floyd, R., 1996. Bath Treatment for Sick Fish. Veterinary Medicine Department, Florida Cooperation Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, VM-78.
- Francis-Floyd, R., 1997. Introduction to Fish Health Management. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, University of Florida, Circular 921.
- Gaze, W.H., Wootten, R., 1998. Ectoparasitic species of the genus *Trichodina* (Ciliophora: Peritrichida) parasitising British freshwater fish. *Folia Parasitologica*, 45: 177 – 190.
- Goodwin, A.E., 2014. Branchiomycosis. In: AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section). FHS blue book: suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. Dostupné online: [cit. 24. 4. 2015] <http://afs-fhs.org/bluebook/bluebook-index.php>.
- Greenspan, F.P., MacKeller, D.G., 1951. The application of peracetic acid germicidal washes to mold control of tomatoes. *Food Technology*, 6: 95 – 97.
- Griffiths, S.G., Melville, K.J., Salenius, K., 1998. Reduction of *Renibacterium salmoninarum* culture activity in Atlantic salmon following vaccination with avirulent strains. *Fish & Shellfish Immunology*, 8 (8): 607 – 619.
- Hill, B.J., 2005. The need for effective disease control in international aquaculture. *Developments in Biologicals*, 121: 3 – 12.
- Hoffman, G.L., Meyer, F.P., 1974. Parasite Control and Treatment. T.F.H public, 224 s.
- Hoffman, G.L., 1977. *Argulus*, a Branchiuran Parasite of Freshwater Fishes. US Fish & Wildlife Publications, paper 137.
- Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P., Wellby, I., 2001. Diseases of Carp and Other Cyprinid Fishes. Fishing News Books – Blackwell Science, 264 s.

- Horáková, M., Lischke, P., Grunvald, A., 1986. Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL, Praha, 392 s.
- Howarth, J., 2003. Decay Kinetics of Peroxyacetic Acid (PAA) and Hydrogen Peroxide (PERASAN[®], EPA #63838-2) in a Variety of Water Matrices. Enviro Tech Chemical Services, 15 s.
- Chupani, L., Stará, A., Velišek, J., Zusková, E., 2014. Evaluation of the toxic effect of peracetic acid on grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) juveniles. Neuroendocrinology Letters, 35 (2): 86 – 92.
- Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B., 1997. Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge University Press, 290 s.
- Jaafar, R.M., Kuhn, J.A., Chettri, J.K., Buchmann, K., 2013. Comparative efficacies of sodium percarbonate, peracetic acid, and formaldehyde for control of *Ichthyobodo necator* – an ectoparasitic flagellate from rainbow trout. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 43 (2): 139 – 143.
- Johansen, L.H., Jensen, I., Mikkelsen, H., Bjørn, P.A., Jansen, P.A., Bergh, Ø., 2011. Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. Aquaculture, 315: 167 – 186.
- Joosten, P.H.M., Tiermersma, E., Threels, A., Caumarin-Dhieneux, C., Rombout, J.H.W.M., 1997. Oral vaccination of fish against *Vibrio anguillarum* using alginate microparticles. Fish & Shellfish Immunology, 7 (7): 471 – 485.
- Jussila, J., Makkonen, J., Kokko, H., 2011. Peracetic acid (PAA) treatment is an effective disinfectant against crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) spores in aquaculture. Aquaculture, 320: 37 – 42.
- Kelly, A.M., 2013. Medicated Feed for Fish. Southern Regional Aquaculture Center, publications No. 473.
- Khodabandeh, S., Abtahi, B., 2006. Effects of sodium chloride, formalin and iodine on the hatching success of common carp, *Cyprinus carpio*, eggs. Journal of Applied Ichthyology, 22 (1): 54 – 56.
- Kitis, M., 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. Environment International, 30: 47– 55.

- Klenk, H., Götz, P.H., Siegmeier, R., Mayr, W., 2000. Peroxy Compounds, Organic. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.
- Klinger, R.E., Francis-Floyd, R., 2013. Introduction to Freshwater Fish Parasites. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Circulation 716.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Edice metodik, FROV JU, č. 88, 30 s.
- Kouřil, J., Svobodová, Z., Vykusová, B., Hamáčková, J., 1984. Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice metodik, VÚRH Vodňany, č. 15, 8 s.
- Kumar, S.R., Parameswaran, V., Ahmed, V.P.I., Musthaq, S.S., Hamees, A.S.S., 2007. Protective efficiency of DNA vaccination in Asian seabass (*Lates calcarifer*) against *Vibrio anguillarum*. Fish & Shellfish Immunology, 23 (2): 316-326.
- Kunigk, L., Gomes, D.R., Forte, F., Vidal, K.P., Gomes, L.F., Sousa, P.F., 2001. The influence of temperature on the decomposition kinetics of peracetic acid in solutions. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 18 (2), 217 – 220.
- Kunigk, L., Silva, S.M., Jurkiewicz, C.H., 2012. The influence of temperature and organic matter on the decomposition kinetics of peracetic acid in aqueous solutions. Latin American Applied Research, 42: 291 – 297.
- Lafontaine, Y., Despatie, S.P., Wiley, C., 2008. Effectiveness and potential toxicological impact of the PERACLEAN[®] Ocean ballast water treatment technology. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71: 355 – 369.
- LaFrentz, B.R., LaPatra, S.E., Jones, G.R., Congleton, J.L., Sun, B., Cain, K.D., 2002. Characterization of serum and mucosal antibody responses and relative per cent survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), following immunization and challenge with *Flavobacterium psychrophilum*. Journal of Fish Diseases, 25 (12): 703 – 713.
- Lahnsteiner, F., Weismann, T., 2007. Treatment of ichthyophthiriasis in rainbow trout and common carp with common and alternative therapeutics. Journal of Aquatic Animal Health, 19 (3): 186 – 194.
- Lall, S.P., 2000. Nutrition and health of fish. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición

- Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19 – 22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- Leaper, S., 1984. Influence of temperature on the synergistic sporicidal effect of peracetic acid plus hydrogen peroxide on *Bacillus subtilis* SA22 (NCA 72-52). *Food Microbiology*, 1 (3): 199 – 203.
- Lefevre, F., Audic, J.M., Ferrand, F., 1992. Peracetic acid disinfection of secondary effluents discharged off coastal seawater. *Water Science & Technology*, 25 (12): 155–164.
- Licek, E., Weismann, T., Hochwartner, O., 2012. Pathogen induced fish diseases of economic importance in Austrian aquaculture and their possible treatment. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 99, (5-6): 145 – 156.
- Liu, D., Steinberg, C.E.W., Straus, D.L., Pedersen, L.M., Meinelt, T., 2014. Salinity, dissolved organic carbon and water hardness affect peracetic acid (PAA) degradation in aqueous solutions. *Aquacultural Engineering*, 60: 35 – 40.
- Lucky, Z., 1986. Péče o zdraví a prevence chorob ryb. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, 188 s.
- Madsen, H.C.K., Buchmann, K., Mellegaard, S., 2000. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. *Aquaculture*, 186: 221 – 231.
- Malchesky, P.S., 2001. Medical Applications of Peracetic Acid. In: Block, S.S. (ed), *Disinfection, Sterilization and Preservation*, Fifth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Marchand, P.A., Phan, T.M., Straus, D.L., Farmer, B.D., Stüber, A., Meinelt, T., 2012. Reduction of *in vitro* growth in *Flavobacterium columnare* and *Saprolegnia parasitica* by products containing peracetic acid. *Aquaculture Research*: 43, 1861 – 1866.
- Marchand, P.A., Straus, D.L., Wienke, A., Pedersen, L.M., Meinelt, T., 2013. Effect of water hardness on peracetic acid toxicity to zebrafish, *Danio rerio*, embryos. *Aquaculture International*, 21: 679 –686.
- Mari, M., Gregori, R., Donati, I., 2004. Postharvest control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in stone fruit by peracetic acid. *Postharvest Biology and Technology*, 33: 319 – 325.

- Martins, M.L., Xu, D.H., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., 2011. Temperature effects on immune response and hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 31: 774 – 780.
- Matthews, R.A., 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Advances in Parasitology*, 59: 159–241.
- Meinelt, T., Matzke, S., Stüber, A., Pietrock, M., Wienke, A., Mitchell, A.J., Straus, D.L., 2009. Toxicity of peracetic acid (PAA) to tocomonts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 86: 51 – 56.
- Meinelt, T., Phan, T.M., Behrens, S., Wienke, A., Pedersen, L.M., Liu, D., Straus, D.L., 2015. Growth inhibition of *Aeromonas salmonicida* and *Yersinia ruckeri* by disinfectants containing peracetic acid. *Diseases of Aquatic Organisms*, 113: 207 – 213.
- Meinelt, T., Richert, I., Stüber, A., Bräunig, I., 2007. Application of peracetic acid to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in Sander (*Sander lucioperca*) breeding. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 114: 244 – 251.
- Meyer, F.P., 199. Aquaculture disease and health management. *Journal of Animal Science*, 69: 4201 –4208.
- 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, kterým se zrušuje nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 a kterým se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/82/ES a nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 726/2004
- 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.
- Németh, S., Horváth, Z., Felföldi, Z., Beliczky, G., 2013. The use of permitted ectoparasite disinfection methods on young pike-perch (*Sander lucioperca*) after transition from overwintering lake to RAS. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 6 (1): 1 – 11.
- Noga, E.D., 2000. *Fish Disease – Diagnosis and Treatment*. Iowa State University Press, Blackwell Publishing company, 367 s.

- NRC - National Research Council., 1993. Nutrient requirements of fish. National Academies Press, 114s.
- Okaeme, A.N., Obiekezie, A.I., Ogbondeminu, F.S., 1987. The economic impact of diseases and parasitic problems in fresh water fish production. In: 5th Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria (FISON), 368 – 374.
- Ölmez, H., Kretzschmar, U., 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 686 – 693.
- Pedersen, L.F., Henriksen, N.H., 2012. Study tests disinfectant alternatives to formalin. *Global Aquaculture Advocate*, no. Jan/Feb: 78 – 79.
- Pedersen, L.M., Meinelt, T., Straus, D.L., 2013. Peracetic acid degradation in freshwater aquaculture systems and possible practical implications. *Aquaculture Engineering*, 53: 65 – 71.
- Pedersen, L.M., Pedersen, P.B., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H., 2009. Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 296: 246 – 254.
- Pokorný, J., 2004. Velký encyklopedický rybářský slovník. 1. vyd. Plzeň Fraus, 649 s.
- Post, G.W., 1983. Textbook of Fish Health. T. H. F. Publications, 256 s.
- Profaizer, M., Massone, A., Nurizzo, C., Bandera, F., 1997. The behaviour of peracetic acid as a water disinfectant. *Mededelingen - Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent*, 62(4b): 1785 – 1792.
- Proxim, 2008. Bezpečnostní list dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 Persteril® 36. Dostupné online [cit. 23. 4. 2015] www.pstruharstvi.cz/soubory/látky-chovu/persteril-36.pdf
- Redshaw, C.J., 1995. Ecotoxicological risk assessment of chemicals used in aquaculture: a regulatory viewpoint. *Aquaculture Research*, 26: 629 – 637.
- Rottmann, R.W., Francis-Floyd, R., Durborow, R., 1992. The Role of Stress in Fish Disease. Southern Regional Aquaculture Center, Publication No. 474.
- Schmahl, G., Mehlhorn, H., 1985. Treatment of fish parasites. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 71 (6): 727 – 737.

- Schmahl, G., Mehlhorn, H., Taraschewski, H., 1989. Treatment of fish parasites: 5. The effects of sym. triazinone (Toltrazuril) on fish parasitic ciliophora (*Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876, *Apiosoma amoeba* Grenfell, 1884, *Trichodina* sp. Ehrenberg, 1831). European Journal of Protistology, 24 (2): 152 – 161.
- Sirri, R., Zaccaroni, A., Di Biase, A., Mordenti, O., Stancampiano, L., Sarli, G., Mandrioli, L., 2013. Effects of two water disinfectants (chloramine T and peracetic acid) on the epidermis and gills of *Garra rufa* used in human ichthyotherapy. Polish Journal of Veterinary Sciences, 16 (3): 453 – 461.
- Smail, D.A., Grant, R., Simpson, D., Bain, N., Hastingm T.S., 2004. Disinfectants against cultured Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus: the virucidal effect of three iodophors, chloramine T, chlorine dioxide and peracetic acid/hydrogen peroxide/acetic acid mixture. Aquaculture, 240: 29 – 38.
- Směrnice 2001/82/ES Evropského Parlamentu a Rady ze dne 6. listopadu 2001 o kodexu Společenství týkajícím se veterinárních léčivých přípravků.
- Směrnice 98/8/ES Evropského Parlamentu a Rady ze dne 16. února 1998 o uvádění biocidních přípravků na trh.
- Smith, S., Schwarz, M., 2009. Dealing with *Trichodina* and *Trichodina*-like species. Virginia Cooperative Extension, Commercial Fish & Shellfish Technology Fact Sheet, Publication 600 –205.
- Solvaychemicals.com, 2015. Dostupné online: [cit. 24. 4. 2015] <http://www.solvaychemicals.com/EN/products/perox/PAA/PAA.aspx>
- Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E., Frost, P., 2005. Vaccines for fish in aquaculture. Expert Review of Vaccines, 4 (1): 89 – 101.
- Stampi, S., Luca, G.D., Onorato, M., Ambrogiani, E., Zanetti, F., 2002. Peracetic acid as an alternative wastewater disinfectant to chlorine dioxide. Journal of Applied Microbiology, 93: 725 – 731.
- Straus, D.L., Meinelt, T., Farmer, B.D., Beck, B.H., 2012a. Acute toxicity and histopathology of channel catfish fry exposed to peracetic acid. Aquaculture, 342 – 343: 134 – 138.
- Straus, D.L., Meinelt, T., Farmer, B.D., Mitchell, A.J., 2012b. Peracetic acid is effective for controlling fungus on channel catfish eggs. Journal of Fish Diseases, 35: 505 –511.

- Subasinghe, R., 2009. Disease control in aquaculture and the responsible use of veterinary drugs and vaccines: The issues, prospects and challenges. In: Rogers, C., Basurco, B. (Eds.). The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Zaragoza : CIHEAM, (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86),
- Sudová, E., Straus, D.L., Wienke, A., Meinelt, T., 2010. Evaluation of continuous 4-day exposure to peracetic acid as a treatment for *Ichthyophthirius multifiliis*. Parasitology Research, 106: 539 – 542.
- Svobodová, Z., Kaláb, P., Dušek, L., Vykusová, B., Kolářová, J., Janoušková, D., 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta Veterinaria Brno, 68: 265 – 274.
- Svobodová, Z., Kaláb, P., Dušek, L., Vykusová, B., Kolářová, J., Janoušková, D., 1999. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta Veterinaria Brno, 68: 265 – 274.
- Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, Z., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb, 4. přepracované vydání. Praha: Informatorium, 264 s.
- Svobodová, Z., Vykusová, B., Modrá, H., Jankovský, J., Smutná, M., 2006. Haematological and biochemical profile of harvest-size carp during harvest and post-harvest storage. Aquaculture Research, 37: 959 – 965.
- Šebesta, R., 2014. Využití kyseliny peroctové k léčbě smíšených parazitárních infekcí. Diplomová práce, FROV JU, 106 s.
- Thorburn, M.A., Jansson, E.L.K., 1988. The effects of booster vaccination and fish size on survival and antibody production following *Vibrio* infection of bath-vaccinated rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture 71 (4): 285 – 291.
- Torgersten, Y., Håstein, T., 1995. Disinfection in aquaculture. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties, 14 (2): 419 – 434
- Treves-Brown, K.M., 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 309 s.
- Turnbull, J.F., 2012. Stress and resistance to infectious diseases in fish. In: Austin, B. (Ed.), Infectious Disease in Aquaculture: Prevention and Control. Elsevier, 560 s.

- Vercruyse, J., Schetters, T.P.M., Knox, D.P., Willadsen, P., Claerebout, E., 2007. Control of parasitic disease using vaccines: an answer to drug resistance? Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties, 26 (1): 105 – 115.
- Verner-Jeffreys, D.W., Joiner, C.L., Bagwell, N.J., Reese, A.R., Husby, H., Dixon, P.F., 2009. Development of bactericidal and virucidal testing standards for aquaculture disinfectants. Aquaculture, 286 (3 – 4): 190 –197.
- Villarini, M., Moretti, M., Dominici, L., Fatigony, C., Dörr, A.J.M., Elia, A.C., Monarca, S., 2011. A protocol for the evaluation of genotoxicity in bile of carp (*Cyprinus carpio*) exposed to lake water treated with different disinfectants. Chemosphere 84: 1521 – 1526.
- Vilumsen, K.R., Dalsgaard, I., Holten-Andersen, L., Raida, M.K., 2012. Potential Role of Specific Antibodies as Important Vaccine Induced Protective Mechanism against *Aeromonas salmonicida* in Rainbow Trout. Plos One 7 (10): e46733.
- Wiles, M., Cone, D.K., Odense, P.H., 1985. Studies on *Chilodonella cyprini* and *C. hexasticha* (Protozoa, Ciliata) by scanning electron microscopy. Canadian Journal of Zoology, 63 (10): 2483 – 2487.
- Xu, D.H., Kleisus, P.H., Shelby, R.A., 2004. Immune responses and host protection of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), against *Ichthyophthirius multifiliis* after immunization with live theronts and sonicated trophonts. Journal of Fish Diseases, 27: 135 – 141.
- Yanong, R.P., 2003. Fungal diseases of fish. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 6 (2): 377 – 400.
- Yildiz, K., Kumantas, A., 2002. *Argulus foliaceus* infection in a goldfish (*Carassius auratus*). Israel Journal of Veterinary Medicine, 57 (2).
- Yuan, Z., Ni, Y., Van Heiningen, A.R.P., 1997. Kinetics of the peracetic acid decomposition: Part II: pH effect and alkaline hydrolysis. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 75 (1): 42 – 47.
- Zákon č. 166/1999 Sb. ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon).
- Zanetti, F., Luca, D.G., Sacchetti, R., Stampi, S., 2007. Disinfection efficiency of peracetic acid (PAA): inactivation of coliphages and bacterial indicators in a municipal wastewater plant. Environmental Technology, 28 (11): 1265 – 1271.

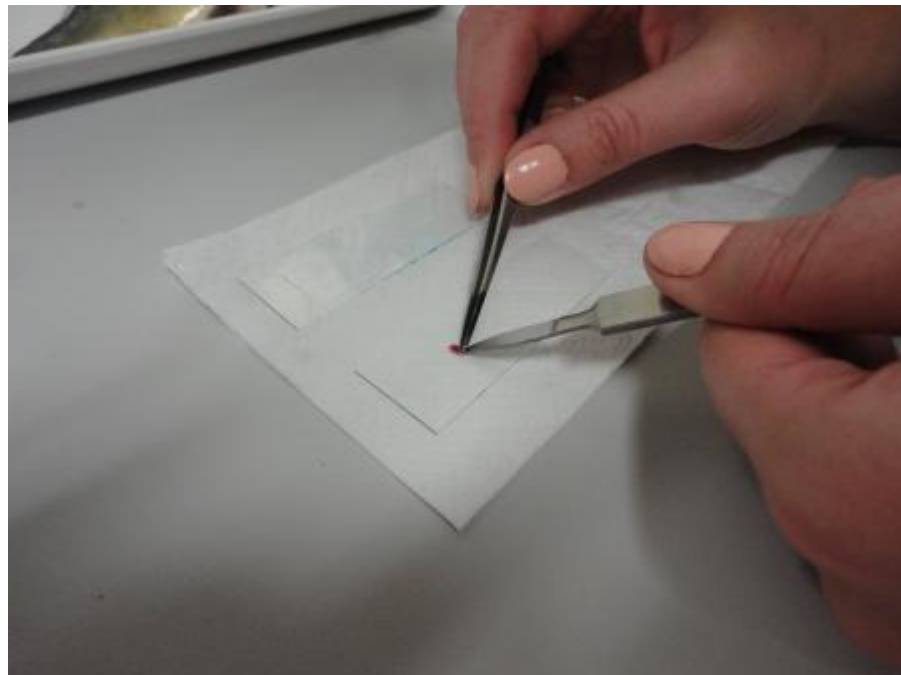
Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J., Gela, D., 2011. Možnosti využití kyseliny perocotové v rybářské praxi. FROV JU Edice metodik č. 109, 26 s.

8. Přílohy

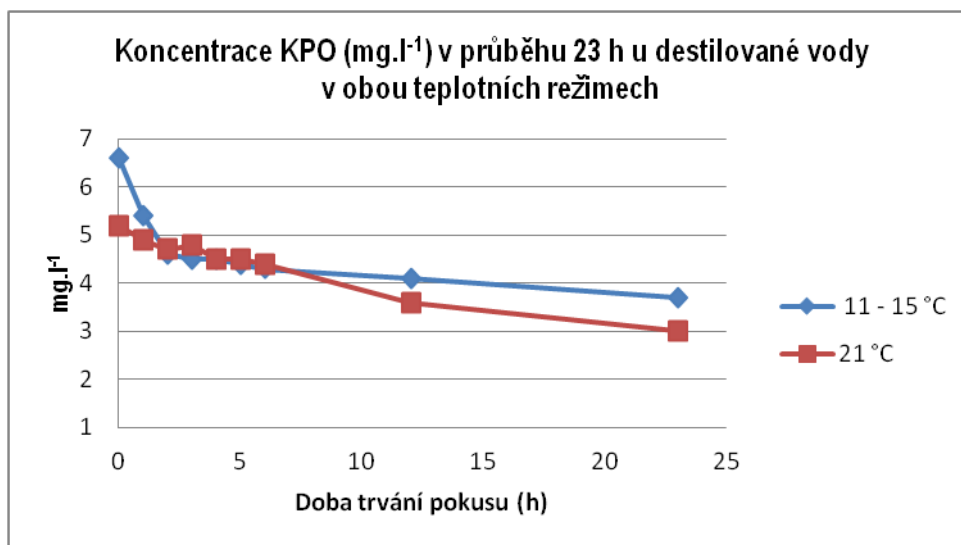
Příloha č. 1: Odebrání stěru ze žaber (foto Alžběta Stará).



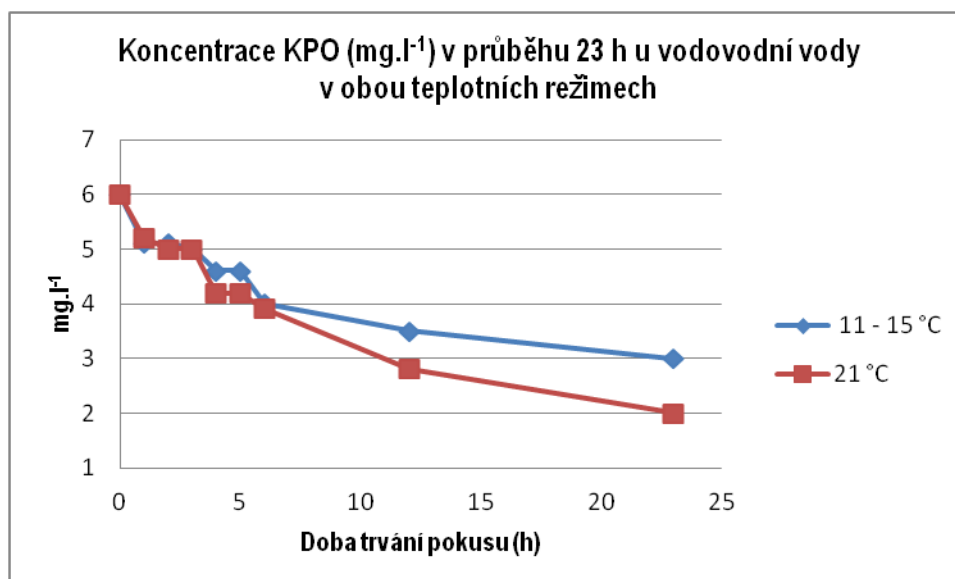
Příloha č. 2: Příprava preparátu pro vyšetření (foto Alžběta Stará).



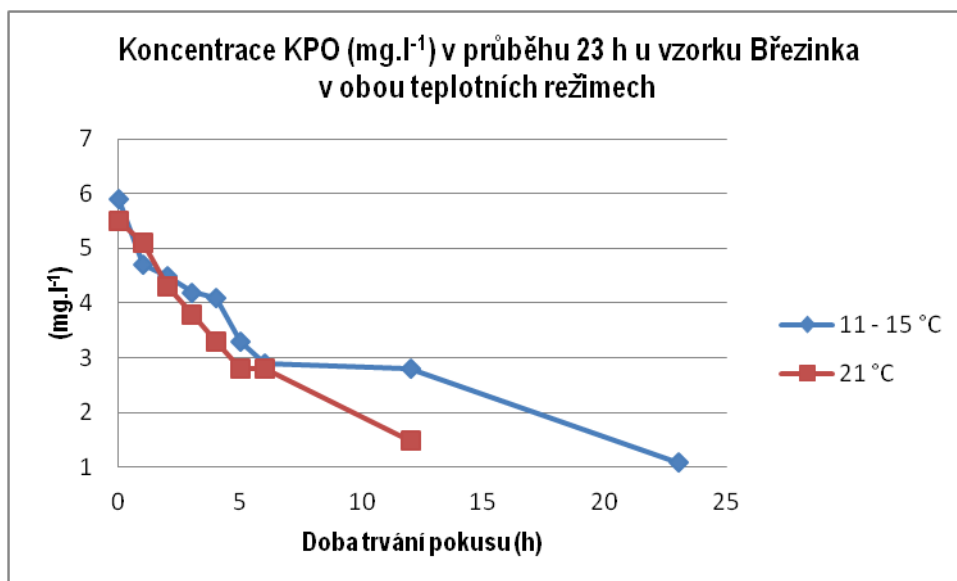
Příloha č. 3: Porovnání úbytku KPO v obou teplotních režimech u destilované vody.



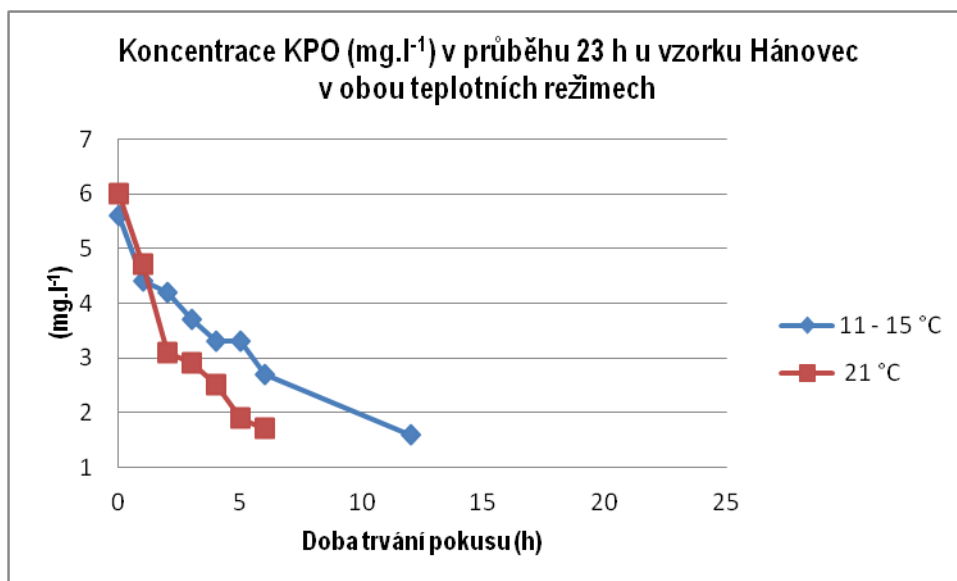
Příloha č. 4: Porovnání úbytku KPO v obou teplotních režimech u vodovodní vody.



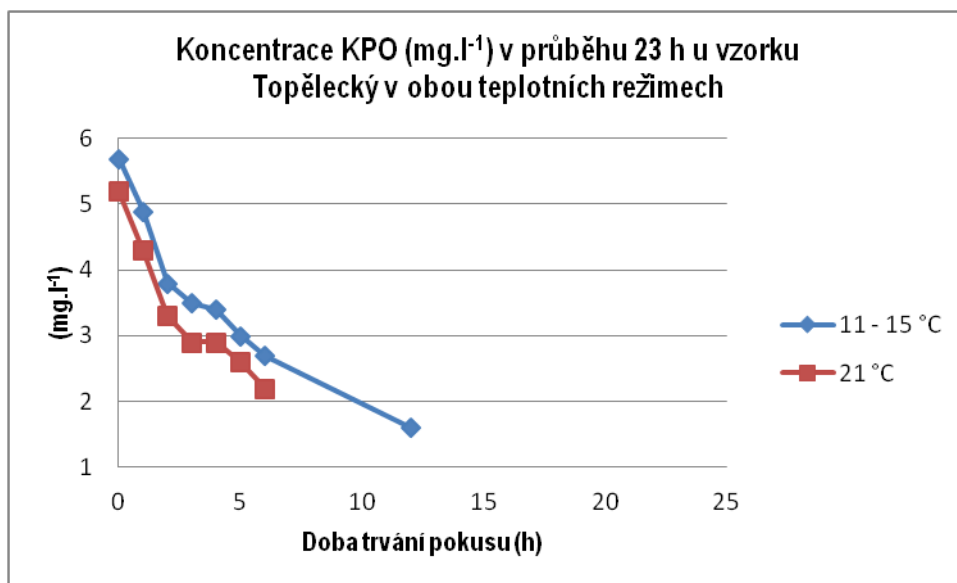
Příloha č. 5: Porovnání úbytku KPO v obou teplotních režimech u vzorku Březinka.



Příloha č. 6: Porovnání úbytku KPO v obou teplotních režimech u vzorku Hánovec.



Příloha č. 7: Porovnání úbytku KPO v obou teplotních režimech u vzorku Topělecký.



9. Abstrakt

Cílem diplomové práce bylo provozně ověřit kyselinu peroctovou (KPO) pro kontrolu ektoparazitů v rybničním chovu kapra. Prvotní pokus, kdy byl zkoumán vliv běžného organického zatížení rybniční vody na rychlost rozkladu ve dvou teplotních režimech (11-15 a 21 °C), ukázal, že v rozmezí 3 až 6 hodin od aplikace KPO dochází poklesu koncentrace pod polovinu iniciační dávky (6 mg.l⁻¹). Zároveň byly zjištěny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$) v porovnání rychlosti rozkladu mezi vzorky rybniční vody a vody organicky nezatížené (destilovaná a vodovodní) v obou teplotních režimech pokusu.

Aplikace KPO v průběhu přepravy do transportních beden byla provedena na třech věkových kategoriích kapra obecného (K₁, K₂ a K₃), kdy ryby byly po dobu 60 – 90 minut vystaveny 1,5 mg.l⁻¹ KPO ve formě Persterilu 36. Parazitární vyšetření kůže a žaber prokázalo především redukci počtu protozoálních ektoparazitů (*Trichodina* spp. a *Apiosoma* spp.) vyšetřovaných jedinců ve srovnání s kontrolou. U dalších nalezených parazitů nebyla KPO účinná. Statistické vyhodnocení prokázalo signifikantní pokles ($p < 0,05$) prevalence pouze ve 3 případech (*Trichodina* spp. a *Gyrodactylus* spp.) z celkových 19 nálezů.

Dlouhodobou 4denní koupelí kaprů s těžkým povrchovým zaplísněním v koncentraci 1,5 mg.l⁻¹ KPO, byl zjištěn pozitivní vliv KPO na celkové přežití ryb. V kontrolní skupině došlo k úhynu všech ryb třetí den pokusu, naopak u pokusné skupiny došlo k eliminaci povrchového zaplísnění a celková mortalita dosáhla pouze 40 %. Kontinuální 14denní aplikace KPO proti ektoparazitům pomocí peristaltické pumpy se neosvědčila.

Klíčová slova: nemoci ryb, ektoparazit, koupele ryb, kyselina peroctová, ektoparazitikum.

10. Abstract

The aim of the thesis was to verify use of peracetic acid (PAA) in production conditions for ectoparasites control in carp pond farming. First test was about evaluation of organic load in pond water on speed PAA decay in two temperature regime (11 – 15 and 21 °C). Results showed that between 3 – 6 hours from PAA application the concentration of PAA was under a half of the initial concentration (6 mg.l^{-1}). Also statically important differences ($p = < 0.05$) were found in speed of decay between samples with organic load (3 samples from ponds) and samples without organic load (distilled and tap water) in both temperature regimes.

Application of PAA during the transport of fish into the transport boxes was performed in three age categories (1, 2 and 3 years old common carps), where the fish were exposed for 60 – 90 minutes in 1.5 mg.l^{-1} PAA as Persteril 36. Parasitic examinations of skin and gills showed reduction of number protozoal parasites (*Trichodina* spp. and *Apiosoma* spp.) in individuals comparing with control. Against other detected parasites was PAA ineffective. Statistical evaluation showed significant ($p = < 0.05$) decrease in prevalence only in 3 cases out of 19 in total.

Long-term four days long fish bath of carps which were heavily infested by *Saprolegnia parasitica* in 1.5 mg.l^{-1} PAA an positive effect on the overall survival was found. In the control group mortality reached 100 % the third day of trial, in contrast with treated group where was *Saprolegnia parasitica* succesfully eliminated and overall moratily was 40 %. Continual fourteen days long application of PAA by peristaltic pump did not proved.

Key words: fish diseases, ectoparasite, fish bath, peracetic acid, ectoparasiticide.