

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

## **Diplomová práce**

# **Využití ozónu v intenzivním chovu vybraných druhů ryb**

**Autor:** Bc. Jakub Vlček

**Vedoucí diplomové práce:** doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

**Konzultant bakalářské práce:** Ing. Miroslav Blecha, Ph.D.

**Studijní program a obor:** Zemědělská specializace, Rybářství a ochrana vod

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** 2. Mgr.

**Místo a rok odevzdání:** České Budějovice, 2018

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své 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 odevzdávanému textu do této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací na Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum: 4. 5. 2018

Podpis studenta .....

## **Poděkování**

V první řadě bych rád poděkoval doc. Ing. Tomášovi Polícarovi, Ph.D. za cenné rady a konzultace, Ing. Miroslavu Blechovi, Ph.D. za korekci odborné části diplomové práce. Poděkování patří také panu Jaroslavu Vanišovi a Ing. Jiřímu Křišťanovi, Ph.D. za praktickou realizaci experimentu. Rád bych také zmínil dr. hab. Ing. Josefa Velíška, Ph.D, MVDr. Jitku Kolářovou a Ing. Alžbětu Starou, Ph.D. a poděkoval jim za kus práce, který odvedli ve svých laboratořích. Je na místě poděkovat také pilotnímu projektu č. CZ.10.2.101/2.1/0.0/15\_001/0000044 „Provozní ověření využití ozónu v intenzivním chovu ryb“ díky kterému byl experiment realizován. Nakonec bych samozřejmě rád poděkoval všem nejbližším za podporu.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Fakulta rybářství a ochrany vod  
Akademický rok: 2015/2016

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

Jméno a příjmení: **Bc. Jakub VLČEK**  
Osobní číslo: **V15N016P**  
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Rybářství a ochrana vod**  
Název tématu: **Využití ozónu v intenzivním chovu vybraných druhů ryb**  
Zadávací 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 :

Současné české produkční rybnářství můžeme charakterizovat jako jednostranně zaměřené na rybníční chov kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Česká republika ročně produkuje kolem 18 - 20 000 tun tržního kapra, což představuje 90% celé produkce ryb v ČR. Je zřejmé, že takováto jednostranná produkce ryb může být v budoucnosti pro české rybnářství výrazným problémem v případě, že současní zákazníci změni svůj zájem konzumovat tržní ryby tohoto druhu. Z tohoto důvodu je důležité více druhově a časově diverzifikovat produkci českého rybnářství. Pro další rozvoj českého rybnářství je velmi důležité zavádět do praxe produkčních rybnářských podniků intenzivní průmyslové chovy zajišťující vyrovnanou a kvalitní celoroční produkci perspektivních druhů ryb, kterými jsou například candát obecný (*Sander lucioperca*) a sumec velký (*Silurus glanis*). Intenzivní chovy zmíněných druhů ryb jsou z hlediska ekonomické efektivity a rentability produkce násadového materiálu či tržních ryb velmi zajímavé. Vyznačují se vysokou intenzifikací práce, vysokým růstem ryb, vysokou konverzí předkládaných krmiv, krátkým produkčním intervalem, produkcí ryb při vysokých hustotách na poměrně malém odchovném prostoru, zajištěním kontinuální kvalitní produkce ryb a nenáročnosti tohoto chovu ryb na velkém množství přítokové vody. Je pravdou, že zmíněné chovy mají také své produkční problémy, které jsou spojené především s nevhodnou zoohygienou chovu, zavlečením parazitů do chovu a zvýšeným výskytem bakteriálních onemocnění v chovu, což přináší vyšší mortalitu chovaných ryb. Zmíněné zvýšené úhyny odchovávaných ryb způsobují sníženou produkci ryb a významné produkční ztráty. Současnými hlavními problémy v intenzivním chovu násadových či tržních ryb sumce velkého jsou: 1) zavlečení ektoparazitů (především kožovce rybího - *Ichthyophthirius multifiliis* či dalších parazitů) do jeho chovu a 2) zvýšená agresivita odchovávaných ryb, která se v chovu projevuje při zhoršujících se zoohygienických podmínkách v odchovných nádržích. U intenzivního chovu candáta obecného dochází k častému zavlečení ektoparazitů do chovu, zvýšenému obsahu organických rozpuštěných látek a bakterií ve vodě a obecně ke zhoršené zoohygieně chovu. Všechny zmíněné problémy u obou druhů ryb způsobují zvýšenou mortalitu ryb, poranění těla odchovávaných ryb, sekundární zaplísnění povrchu těla ryb či zvýšený stres u ryb. Díky těmto jevům dochází u intenzivních chovů daných druhů ryb k nemalým ztrátám ryb úhynem, k snížené produkci ryb a k zhoršené ekonomice chovu. Ozonizace vody neboli rozpouštění molekul O<sub>3</sub> ve vodě je v současné době nejefektivnější a nejekologičtější způsob dezinfekce vody v rámci intenzivní akvakultury. Ozon má velmi silné oxidační schopnosti a silný dezinfekční účinek. Ozonizace dlouhodobě zabezpečuje v intenzivním chovu ryb kvalitní hydrochemické složení vody. Voda má nižší organické a bakteriologické zatížení a je dále prostá ektoparazitů. Ozon použitý i v malých dávkách je schopný garantovat dostatečnou hygienu chovu a následně pomocí různých technických řešení se rozkládá na kyslík bez zanechání jakýchkoli reziduí ve vodě. Ozon se při rozkladu dokonce stává zdrojem okysličené vody. V ČR do současné doby nebyla ozonizace vody v rámci žádného intenzivního chovu ryb (především u vybraných druhů ryb) experimentálně testována s cílem vyhodnotit pozitivní vliv ozonizace na kvalitu (především průhlednost vody, BSK, NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub> a NO<sub>3</sub>) a bakteriologické zatížení vody, konverzi živin, přežití, zdravotní stav, růst a kondici odchovávaných ryb.

Cílem této diplomové práce je experimentálně vyhodnotit vliv ozonizace vody na zmíněné parametry intenzivního chovu obou zmíněných druhů ryb. Výsledky práce detailně popíší vliv ozonizace intenzivního chovu vybraných druhů ryb na kvalitu vody, výskyt ektoparazitů či bakterií ve vodě, zdravotní a kondiční stav, rychlost růstu, konverzi živin a míru přežití u odchovávaných ryb.

Rozsah grafických prací: podle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 50 - 60 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

- Davidson, J., Good, C., Welsh, C., Summerfelt, S., 2011: The effects of ozone and water exchange rates on water quality and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* performance in replicated water recirculating systems. *Aquaculture Engineering*, 44: 80 - 96.
- Good, C., Davidson, J., Welsh, C., Snekvik, K., Summerfelt, S., 2011: The effects of ozonation on performance, health and welfare of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in low-exchange water recirculation aquaculture systems. *Aquaculture Engineering*, 44: 97 - 102.
- Goncalves, A. A., Gagnon, G.A., 2011: Ozone Application in Recirculating Aquaculture System: An Overview. *Ozone-Science & Engineering*, 33:345-367.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009: Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Edice metodik, FROV JU, Vodňany, 88: 30s.
- Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000: Choroby ryb. Skripta VFU Brno, 155 s.
- Schroeder, J.P., Croot, .PL., Von Dewitz, B., Wallerd, U., Hanel, R., 2011: Potential and limitations of ozone for the removal of ammonia, nitrite, and yellow substances in marine recirculating aquaculture systems. *Aquaculture Engineering*, 45: 35 - 41.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Tsukuda, S.M., Gearheart, M., 2009: Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. *Aquaculture Engineering*, 40: 17 - 27.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Hollis, J., Gleason, L.E., Summerfelt, S.R., 2004: Dissolved ozone destruction using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. *Aquaculture Engineering*, 32: 209 - 223.

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

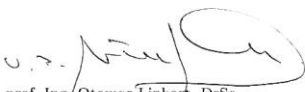
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant diplomové práce: Ing. Miroslav Blecha

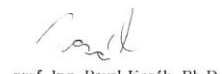
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: 11. prosince 2015

Termín odevzdání diplomové práce: 5. května 2017

  
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.  
děkan

L.S.

  
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 6. ledna 2016

## Obsah

1. Úvod.....	9
2. Literární přehled .....	10
2.1. RAS .....	10
2.2. Základní části vertikálního RAS .....	10
2.3. Vhodné ryby pro intenzivní akvakulturu využívající RAS.....	10
2.4. Candát obecný.....	11
2.4.1. Popis candáta a jeho biologie .....	11
2.4.2. Význam candáta .....	13
2.4.3. Intenzivní chov candáta v podmínkách RAS .....	13
2.4.4. Optimální životní podmínky pro chov candáta v RAS .....	14
2.4.5. Hlavní produkční ztráty při intenzivním odchovu candáta .....	15
2.5. Sumec velký ( <i>Silurus glanis</i> ) .....	15
2.5.1. Popis sumce a jeho biologie .....	15
2.5.2. Význam sumce .....	17
2.5.3. Optimální životní podmínky pro chov sumce v podmínkách RAS.....	17
2.5.4. Hlavní produkční ztráty při intenzivním odchovu sumce .....	18
2.5.5. Nejčastější patogeny při odchovu sumce velkého a candáta obecného.....	19
2.6. Znečištění vody v rybochovných objektech.....	21
2.7. Nemoci ryb v intenzivních chovech.....	22
2.7.1. Vnější příčiny onemocnění.....	22
2.7.2. Vnitřní příčiny onemocnění.....	23
2.8. Vyšetření zdravotního stavu ryb .....	23
2.8.1. Terénní vyšetření .....	23
2.8.2. Laboratorní vyšetření ryb .....	25
2.9. Potřeba desinfekce v akvakultuře.....	25
2.10. Metody desinfekce .....	25
2.11. Desinfekční přípravky používané v rybářství .....	26
2.12. Chlorace – Halogenace .....	27
2.13. UV záření .....	28
2.13.1. Historie UV .....	28

2.13.2. Využití UV v úpravě vody .....	28
2.13.3 UV výbojky .....	29
2.14. Ozonizace .....	29
2.14.1. Vlastnosti ozonu a historie jeho využití a výroba .....	29
2.14.2. Využití ozonizace v akvakultuře .....	30
2.14.3. Mechanismus účinku ozonu na buňky .....	30
2.14.4. Technologické řešení aplikace ozonu .....	31
2.14.5. Deozonizační zařízení .....	31
2.14.6. Bezpečnostní rizika při práci s ozonem .....	31
3. Materiál a metodika .....	32
3.1. Materiál .....	32
3.1.1. Místo a termín uskutečnění pokusu .....	32
3.1.2. Popis použitých RAS .....	32
3.1.3. Anestetikum .....	32
3.1.4. Desinfekční přípravky .....	33
3.1.5. Použité nářadí a pomůcky .....	33
3.2. Metodika .....	34
3.2.1. Organizace experimentu .....	34
3.2.2. Nasazení ryb do RAS .....	34
3.2.3. Ozonizace vody v RAS1 .....	35
3.2.4. Krmení ryb .....	36
3.2.5. Stanovení fyzikálně chemických parametrů vody v RAS .....	37
3.2.6. Světelný režim v průběhu experimentu .....	37
3.2.7. Čištění a údržba RAS .....	37
3.2.8. Běžně sledované parametry v průběhu odchovu ryb .....	38
3.2.9. Sledování a hodnocení celkové kondice a zdravotního stavu ryb .....	39
3.2.10. Senzorické hodnocení svaloviny .....	44
3.2.11. Zpracování a vyhodnocení výsledků .....	46
4. Výsledky .....	46
4.1. Průběh průměrné kusové hmotnosti ve skupinách candát ozon + a candát ozon – .....	46
4.2. Průběh průměrné celkové délky těla ve skupinách candát ozon + a candát ozon – .....	46



4.3. Průběh průměrné kusové hmotnosti ve skupinách sumec ozon + a sumec ozon –	47
4.4. Průběh průměrné celkové délky těla ve skupinách sumec ozon + a sumec ozon –	48
4.5. Porovnání SGR, FK, FCR a P u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého na konci 231 denního odchovu.....	49
4.6. Srovnání zjištěných chemických parametrů vody v nádržích a biofiltrech .....	53
4.7. Výsledky makroskopického vyšetřování v rámci sledování zdravotního stavu a welfare ryb .....	55
4.8. Výsledky parazitologického vyšetření .....	57
4.9. Suspektní bakteriologické vyšetření .....	58
4.10. Histologické vyšetření žaber odchovávaných ryb.....	59
4.11. Detailní výsledky týkající se úrovně oxidativního.....	61
4.12. Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků žaber ryb a vody .....	67
4.14. Posouzení stavu a poškození ploutví.....	69
4.15. Stanovení a vyhodnocení SSI, HSI a VSI.....	73
4.16. Výsledky senzorické analýzy svaloviny odchovaných candátů obecných a sumců velkých na konci 231 denního experimentálního odchovu .....	73
5. Diskuze .....	75
6. Závěr .....	79
7. Seznam použité literatury .....	80

## 1. Úvod

Rybníkářství má v České Republice hluboké kořeny, sahající až do přelomu 11. a 12. století. Produkce sladkovodních ryb, se v posledních letech pohybuje na úrovni 19-20 tis. tun tržních ryb ročně (FAO, 2015). Majoritní část této produkce pochází právě z tradičního rybníkářství. Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) se ukázal jako velice vhodný druh pro naše klima a způsob hospodaření, díky tomu patří více než 90 %ní podíl produkce právě kaprovi. Přibližně 50 % u nás vyrobených tržních ryb je vyvezeno do zahraničí, a to zejména do Německa, Rakouska, Polska, Francie. Na budoucnost tuzemských rybníkářských firem lze nahlížet jako na dost zranitelnou, zvláště pokud se změní klimatické podmínky či odběratelé změní své konzumní návyky. Jako řešení se nabízí intenzivní akvakultura, jenž se ve velkém prosazuje zejména v zahraničí (Polícar a kol., 2011b). Díky intenzivní akvakultuře, a to především v podobě RAS – Recirkulačních Akvakulturních Systémů je možné produkovat velká množství na trhu dobře ceněných ryb, které jsou v rybníkářství chovány pouze jako doplňkové druhy. Jedná se především o candáta obecného (*Sander lucioperca*) sumce velkého (*Silurus Glanis*) a další druhy jako jsou například okoun říční (*Perca fluviatilis*), mník jednovousý (*Lota lota*), jeseteři (*Acipenseridae*) nebo lososovité ryby (*Salmonidae*). Dá se očekávat, že poptávka po těchto druhích ryb bude stoupat (Polícar a kol., 2009; 2011a). Zavádění RAS do provozu rybářských podniků hospodařících zejména na rybnících, je kromě jiného perspektivní z důvodu nezávislosti na klimatických podmínkách a možnosti produkce ryb dobře uplatnitelných na tuzemském i zahraničním trhu. Provoz RAS ale má i jistá úskalí. Jedním z nich je nutnost přísného dodržování zoohygieny, sledování fyzikálně chemických parametrů vody a sledování potažmo udržování dobrého zdravotního stavu rybí obsádky (Pokorný a kol., 2003). V podmínkách intenzivních chovů je nezbytné použití přípravků a technologií, které zajistí účinnou desinfekci nářadí, odchovných prostor a prevenci proti onemocněním případně léčení ryb. Ozon neboli molekula O<sub>3</sub> má vysoký oxidační potenciál. Ve vodárenství se již několik let uplatňuje při desinfekci pitné vody. Nyní se technologie desinfekce vody za pomoci ozonu začíná používat v intenzivních chovech - v RAS za účelem eliminace patogenů, snížení rizik rozvoje bakteriálních onemocnění a také za účelem zlepšení kvality vody (Liltved, 2003).

## **2. Literární přehled**

### **2.1. RAS**

RAS jsou charakterizovány jako intenzivní technologie odchovu ryb s vysokým produkčním potenciálem, nízkou spotřebou vody, malou zastavěnou plochou a minimálním nebo téměř žádným znečištěním prostředí (Blancheton a kol., 2002; Kouřil a kol., 2008). Obecně lze říci, že se každý RAS skládá z jednotky odchovných nádrží pro ryby, případně pro jiné organismy a filtrační jednotky, která má za úkol úpravu kvality vody. Recirkulační systémy lze rozdělit dle konstrukce na horizontální a vertikální. Ve vertikálních systémech zajišťují oběh vody klasická vodní čerpadla a v horizontálních systémech kde je malý výškový rozdíl hladin zajišťují pohyb vody airlifty – například systémy dánského typu (Kouřil, 2015; Kouřil a kol., 2013). Výhodou recirkulačních systémů, které jsou situované v halách či budovách, je především nezávislost na vnějším počasí a ročním období. Chovatel tak může aplikovat různé zootechnické postupy, jako jsou například mimosezónní výtěry a následující přechod larválních stádií na exogenní výživu (granulovaná krmiva) v libovolné lokalitě a v libovolné části roku (Kouřil a kol., 2013).

### **2.2. Základní části vertikálního RAS**

Každý vertikální recirkulační systém se skládá z několika prvků. Prvním, jsou odchovné nádrže, následuje mechanická filtrace, biologická filtrace – takzvané srdce RAS, odplynění, aerace nebo oxygenace, desinfekce vody, retenční nádrž/e, zpravidla bývá zařazeno i zařízení pro ohřev vody v okruhu a také vodní čerpadla (Pokorný a kol., 1998; Timmons a kol., 2005). Také jsou zařazovány některé další prvky nebo jejich modifikace – jedná se především o různé způsoby filtrace, jako jsou sedimentace či flotace, automatizace krmících zařízení, elektronická zařízení jako jsou měřicí stanice (O<sub>2</sub>, pH, NH<sub>4</sub>), záložní agregáty, tepelná čerpadla atd. Sterilizace vody v těchto systémech je velice důležitým prvkem. Sterilizace/desinfekce je v praxi zpravidla zajištěna UV zářiči, ozonizací nebo za pomoci různých chemických přípravků, či jejich kombinací (Liltved, 2003., Timmons a kol., 2005).

### **2.3. Vhodné ryby pro intenzivní akvakulturu využívající RAS**

Kvůli faktu, že se chovatel potýká s vyššími náklady při chovu ryb v RAS, a to ať už investičními (výstavba) či provozními (energie, krmiva) je třeba se zaměřit na chov těch

druhů ryb, které jsou realizovatelné za vyšší cenu. Jedná se především o lososovité, jako jsou siven americký (*Salvelinus fontinalis*) a pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), sumec velkého (*Silurus glanis*), sumečka afrického (*Clarias gariepinus*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), candáta obecného (*Sander lucioperca*), jesetery (*Acipenseridae*), okrasné a akvarijní ryby apod. Další možností využívání RAS je sezonní odchov ryb v kombinaci s rybničním chovem (Kouřil a kol., 2013).

## **2.4. Candát obecný**

### **2.4.1. Popis candáta a jeho biologie**

Candát obecný se původně vyskytoval v povodí Dunaje a v evropských severských řekách, dnes candáta můžeme najít na území většiny států starého kontinentu (Pospíšil, 1998; Wilson, 1999). Candát má podlouhlé vřetenovité tělo pokryté ktenoidními šupinami (Čítek a kol., 1998). Charakteristické pro candáta jsou „psí zuby“ a výrazné lesklé oči (Dubský a kol., 2003). Hřbet je olivově zelený a boky přecházejí v bílé břicho (Wilson, 1999). Na bocích se nachází 8-12 černozeleňých svislých pruhů, které ventrálním směrem souvisle přecházejí v nepravidelné skvrny (Hanel a lusk, 2005). Durantel (1999) konstatuje, že se břišní párová ploutev nachází blízko prsní párové ploutve, což je charakteristickým znakem okounovitých ryb. V přirozených podmínkách candát upřednostňuje spodní úseky řek a hluboké vodní nádrže. Běžně obývá vnitrozemská jezera ale také brakické vody (Balon a kol., 1977; Dungel a Řehák, 2005). Baruš a Oliva (1995) uvádějí, že je candát schopen trvale žít ve slané vodě, trvalé populace žijí například ve Finském zálivu, nebo v Černém moři či dokonce v Azovském moři. Dle Čítka a kol. (1998), candát vyhledává především místa s tvrdým písčitým dnem a kvalitní na kyslík bohatou vodou. Za optimální teplotu vody pro candáta lze považovat 22-27°C a letální hranice leží na 37°C (Zakes, 2009). Candát vyžaduje dostatečné nasycení vody kyslíkem a to nejčastěji nad 7mg.l<sup>-1</sup>, krátkodobě zvládne přestát i hodnoty okolo 3,5 mg.l<sup>-1</sup>. Dle Fülnera a kol. (2007) candát snáší pH v rozmezí 5-9. Nesnáší často zakalené vody a je přizpůsoben k životu ve větších hloubkách (Dubský a kol., 2003). Candáti se stejně jako ostatní okounovité ryby s oblibou shlukují do hejn složených z přibližně stejně velkých jedinců. Ryby větší než 4-5 kg jsou samotářské (Durantel, 1999).

Rychlost růstu candáta je závislá především na dostupnosti potravy a kvalitě prostředí (Hartman a Regenda, 2014). V průměrných podmínkách dorůstá candát v 1.

roce života délky TL = 63 - 200 mm (10-60g), ve druhém roce TL = 130 - 300 mm, ve 3. roce délky TL = 188 - 350 mm. A každý následující rok přirůstá průměrně o 0,5 - 1 kg (Baruš a Oliva, 1995; Dubský a kol., 2003; Dyk, 1952; Lusk a kol., 1992; Stráňai, 2000). Bylo prokázáno, že jikernačky rostou o 10 - 15% rychleji než mlíčáci (Füllner a kol., 2007; Kostomarov, 1958; Podubský a Štědranský, 1967).

Candát pohlavně dospívá nejčastěji mezi 3. – 5. rokem života. Mlíčáci zpravidla o rok dříve než jikernačky (Durantel, 1999). Na severní polokouli se candát vytírá od konce dubna do začátku června (Hanel a Lusk, 2005). Výtěr nejčastěji probíhá při teplotě 8 - 16°C (Reiser a kol., 1983; Tesch, 1959). Mlíčák, který připlouvá na trdliště jako první je v průběhu výtěru agresivní, hlídá hnízdo a ploutvemi přivádí k jikrám čerstvou vodu. Hnízdo má většinou v průměru okolo 500 mm (Erm, 1981; Hanel a Lusk, 2005). Jikry jsou žlutozelené až šedozelené a lepivé. Přichytávají se na výtěrovém substrátu a okolních rostlinách (Botsjarnikova, 1952; Podubský a Štědranský, 1967; Musil a Kouřil, 2006). Na délku inkubace má vliv především teplota vody. Vývoj jiker trvá po dobu 80 - 150°D, nejčastěji ovšem 110 – 120°D (Pokorný a kol., 2003; Mareš a Burleová, 1983; Musil a Kouřil, 2006; Zakes, 2009). Je možné říci, že čím starší a větší jsou generační ryby, tím je i vyšší relativní plodnost stejně jako velikost jiker a následně larev. Relativní plodnost se pohybuje v mezích od 48 do 467 ks.g<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky (Erm, 1961; Gaygalas a Gyarulaytis, 1974). Dubský a kol. (2003) uvádí relativní plodnost na úrovni 150-170 tis.kg<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky. Velikost nenabobtnalých jiker se pohybuje od 0,6 do 1,4 mm s průměrnou hodnotou 0,9 mm a nabobtnalé jikry jsou velké od 0,9 do 1,6 mm (Erm 1961; Zakes, 2009). Vylíhnutá larva nemá vyvinuté oči, oční pigment viditelně vybarví oči až 3. den po vykulení (os. sděl. Blecha, 2013). Vykulené larvy jsou nejčastěji velké 4,5 - 5,5 mm (Dubský a kol., 2003; Schlumberger a Proteau, 1996). Pohyb larvám usnadňuje tuková kapénka, která jej nadlehčuje a umožňuje vznášení se ve vodním sloupci. Candát 6. - 8. den po vylíhnutí opakovaně plave k hladině a polyká vzduchovou bublinu (Dubský a kol., 2003). Larvy candáta přecházejí na exogenní výživu 6. - 9. den po vylíhnutí a k úplnému vstřebání žloutkového vaku dochází 12. - 14. den po vylíhnutí. Larvy začínají přijímat potravu již před naplněním plynového měchýře (Čítek a kol 1998., Dubský a kol 2003). Candát se zpočátku živí tak jako většina dalších ryb nejjemnějším zooplanktonem (Musil a Kouřil, 2006; Policar a kol., 2011; Reiser a kol, 1983). Tak jak candát roste, přijímá stále větší potravu, od hrubého zooplanktonu, přes bentické organismy až po ryby vhodné

velikosti. Jedná se především o ryby, jako je plotice obecná (*Rutilus rutilus*), slunka obecná (*Leucaspis delineatus*), ouklej obecná (*Alburnus alburnus*) a perlín ostrobřichý (*Scardinius erythrophthalmus*). Candát má také sklony ke kanibalismu, které se projevují již od TL = 12 mm (Hanel a Lusk, 2005).

#### **2.4.2. Význam candáta**

Candát obecný je vysoce oblíbeným rybím druhem jak mezi konzumenty díky kvalitnímu masu, tak mezi sportovními rybáři (Zakes, 2009). Ve vodních ekosystémech jeho pozitivní vliv spočívá především ve vyvíjení predančního tlaku na menší kaprovité ryby a tím dochází ke zlepšení kvalitativních parametrů vody (Dörner a kol., 1999). Dodávky tržních candátů na trh jsou závislé především na odloveh z volných vod Ruska, Polska, Švédska, Estonska, Finska a Ukrajiny. (Policar a kol., 2014). Od roku 1950 až dosud množství odlovených ryb z volných vod pokleslo o více než dvě třetiny (FAO, 2015). Jeho snižující se výlovky z volných vod a nízká produkce způsobily, že je západní trh nedostatečně zásobován tržními rybami a jejich cena neustále roste. Díky tomu je candát vhodným kandidátem pro recirkulační systémy (Policar a kol., 2014). V roce 2014 bylo v akvakultuře vyprodukováno 893 t tržních candátů a toto číslo se každoročně zvyšuje (FAO, 2015). Prodejní cena tržních candátů se pohybuje od 10 EUR.kg<sup>-1</sup> při velkoobchodním prodeji až po 16 EUR.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti při maloobchodním prodeji (Blecha osobní sdělení, 2018).

#### **2.4.3. Intenzivní chov candáta v podmínkách RAS**

Hlavním cílem chovu candáta v intenzivním chovu je celoroční produkce tržních ryb v kratším časovém intervalu ve srovnání s rybničním nebo extenzivním chovem a odchov kvalitního násadového materiálu vykazující vyšší kusovou hmotnost a vyšší přežití (Zakes a Szczepkowski, 2004). Dalším cílem chovu candáta v RAS je vytvořit uzavřený výrobní cyklus, kdy generační materiál, následný násadový materiál až po tržní ryby nepříjde vůbec do styku s vnějším prostředím. V kontrolovaných podmínkách jsou tak odchovávány všechny věkové kategorie, čímž je minimalizováno riziko přenosu nález (Baránek a kol., 2005; Philipsen, 2008). Ve výzkumu jehož výsledky byly publikovány v roce 1996, Brown a kol., společně s Ruuhijärvi a Hyvärinen (1996) uvádějí, že je odchov larev v intenzivních podmínkách chovu možný, avšak velice problematický a zatížený vysokými ztrátami. Největší problém je především velikost larev, potažmo velikost jejich ústního otvoru. Larvy, které jsou velké nejčastěji od TL = 4,5 - 5,5 mm jsou schopny přijímat potravu o velikosti do 200 μm (Ljunggren, 2003;

Schlumberger a Proteau, 1996; Steffens a kol., 1996). Ačkoliv je dnes technologie intenzivního odchovu larev candátů do velikosti juvenilů (TL 35-50mm) celkem dobře zvládnuta, stále se potýká s problémy jako nižší životaschopnost a kvalita larev, a také náročností tohoto postupu. Z tohoto důvodu je stále často uplatňován odchov ryb do stádia rychleného plůdku v rybníčních podmínkách a následně jsou tyto juvenilní ryby adaptovány na podmínky RAS a co-feedingem převedeny na vhodné granulované krmivo (Policar a kol., 2011a; Policar a kol., 2013). Zakes (2003) konstatuje, že je candát vhodným druhem pro chov v RAS, a to díky ochotě konzumovat granulovaná krmiva a jejich dobrému využití, relativně nízké mortalitě a rychlému růstu. Tržních ryb vážících 1 kg v podmínkách RAS je možné dosáhnout zhruba po 15-18 měsících odchovu. Zienert a Heidrich (2005) publikují, že je možné dosáhnout hmotnosti ryb až 900 g již po 13 měsících intenzivního odchovu.

#### **2.4.4. Optimální životní podmínky pro chov candáta v RAS**

Candát obecný je teplomilný druh schopný tolerovat chladnější prostředí (Policar 2015, osobní sdělení). Nejlepších výsledků ohledně rychlosti růstu bylo dosaženo při teplotě 27 - 28°C, nicméně ryby rostou uspokojivou rychlostí také při odchovné teplotě 22 - 23°C, což výrazně snižuje náklady na ohřev vody (Policar a kol., 2011a; Zakes, 1997;). Při experimentu Policara a kol. (2014), byly na počátku intenzivního odchovu, ryby o kusové hmotnosti  $0,7 \pm 0,1\text{g}$  plně převedené na umělou dietu odchovávány v RAS při biomase  $4,69\text{kg/m}^3$  ( $6,7\text{ ks.l}^{-1}$ ). Szkudlarek a Zakes (2002) a Molnár a kol. (2004) také ověřovali technologii intenzivního odchovu candátů převedených na umělou dietu a nejčastěji využívali hustotu obsádky  $0,6\text{-}2,31\text{ kg/m}^3$  u ryb ve velikosti rychleného plůdku. S postupně se zvyšující se kusovou hmotností ryb a současným snižováním počtu kusů na jednotku objemu je možné candáty odchovávat při hustotě až  $80\text{ kg/m}^3$ . Nejčastěji jsou k odchovu použity nádrže o objemu od 800 litrů do  $30\text{m}^3$  (Policar a kol., 2014; Zakes, 2003). Za optimální nasycení vody kyslíkem lze pokládat 90 – 120 % a nežádoucí je pokles po 70 % (Policar a kol. 2014; Wang a kol., 2009; Zakes, 1999). Co se týká intenzity krmení, v období co-feedingu je zapotřebí krmit až 10x denně startérovými krmivy s vysokým obsahem proteinů a nízkým obsahem tuků (Stejskal a kol., 2010). Jako optimální obsah proteinů v krmivu lze považovat rozmezí 43-50 %. Pokud je obsah proteinu nižší než 34 %, nespĺní nutriční požadavky pro normální vývoj a růst ryb (Kestemont a kol., 2001; Wilson a kol., 1991). Kestemont a kol. (2004) uvádí, že by vhodné krmivo mělo mít maximálně 16 % tuků. Stejný autor

uvádí, že nejvíce nutričním požadavkům candáta s ohledem na rychlost růstu a dobrý zdravotní stav odchovávaných ryb odpovídá kompletní krmná směs, která má 43 % proteinů, 10 % lipidů a 15 % sacharidů.

#### **2.4.5. Hlavní produkční ztráty při intenzivním odchovu candáta**

Prvotní ztráty stejně tak jako u všech dravých ryb může u larev a juvenilních ryb způsobovat kanibalismus, proto je třeba dodržovat správné hustoty obsádek, správnou techniku krmení a třídění ryb (Polícar a kol., 2011b). Candát je ryba velice náročná na množství rozpuštěného kyslíku, proto často způsobují ztráty kyslíkové deficity. V intenzivních chovech se jedná především o různé technologické problémy snižující účinnost oxygenace či aerace, u méně sofistikovaných systémů výpadky elektřiny či nesprávná činnost filtračních jednotek, a nakonec lidský faktor (Blecha, 2017 osobní sdělení; Hartman a Regenda, 2014). Z nemocí jsou pro candáta nebezpečné motolice, například 2,5cm velká (*Bunodera luciopercae*), která žije ve střevě a pylorických přívěscích, nebo druhy *bucephalus polymorphus* a *rhipidocotyle illese* jejichž metacerkálie o velikosti 0,3-0,5mm přebývají v žaberním epitelu či na kůži nebo ve svalovině (Dyk, 1952; Navrátil a kol., 2000). Z motolic je nebezpečný také rod *Diplostomum*, který při masivním napadení ryby způsobuje oslepnutí ryby. Takoví jedinci postupně hynou většinou v důsledku vyhladovění (Čítek a kol., 1997). Pro mladší věkové kategorie mohou být smrtelně nebezpečné chobotnatky rybí (*Piscicola geometra*), střevní tasemnice (*Cestoda*), kapřivci (*Argulus foliaceus*) a žábrohliští rodu *Dactyrogyrus* (Dyk, 1952). Při manipulaci dochází k drobným oděrkám a setření ochranné hlenové vrstvy na povrchu těla ryb, tato je vstupní branou především pro bakterie a mykotické původce plísní. Candáti jsou velice citliví zejména na plísně rodu *Saprolegnia sp* (Hartmann a Regenda, 2014; Polícar a kol., 2011). Kožovec rybí (*Ichthyophthirius multifiliis*) může v intenzivním chovu při masivním rozvoji také působit značné problémy (Blecha, 2017 osobní sdělení; Hartmann a Regenda, 2014).

### **2.5. Sumec velký (*Silurus glanis*)**

#### **2.5.1. Popis sumce a jeho biologie**

Sumec velký patří do řádu Sumci (*Siluriformes*), který skýtá čeledě sumcovití (*Siluridae*), sumečkovití (*Ictaluridae*), keříčkovití (*Clariidae*) (Dubský a kol., 2003). Původní areál rozšíření sumce velkého zahrnuje větší část Evropy od řeky Rýn směrem na východ v řekách a vodách patřících do úmoří Baltského, Černého, Kaspického moře



včetně Aralského jezera. Nicméně sumec velký je v současnosti na mnoha místech svého nepůvodního areálu výskytu považován za invazivní druh (Copp a kol., 2009; Hartmann a Regenda, 2014). Sumec velký má protáhle tělo, které se zužuje od široké hlavy směrem k ocasní ploutvi. Ocasní část je zploštělá. Povrch těla je pokrytý kůží bez šupin. Hlava je svrchu zploštělá. Tlaha je široká a na předčelistních kostech je mnoho drobných zubů (Baruš a Oliva, 1995). Oči jsou v poměru k velikosti těla drobné. Celkem má sumec 3 páry vousků. 1 nejvýraznější pár je na vrchu tlavy, další dva páry pak ve spod. Zbarvení sumce vždy reflektuje podmínky, ve kterých žije. Nicméně základní zbarvení je olivově zelené až modročerné. Hřbet je tmavý, na bocích je výrazné mramorování, které zasahuje až na řitní ploutev. Břicho je šedé až bílé, částečně skvrnité (Dubský a kol., 2003). Hřbetní ploutev je malá a krátká, zatímco řitní ploutev je velmi dlouhá (Hartman a Regenda, 2014). Díky vzrůstovým možnostem sumec preferuje stanoviště s větší hloubkou. Jedná se především o různé tůně a prolákliny v dolních úsecích řek a vodních nádržích. Sumec vyhledává prostředí s členitým dnem s dostatkem úkrytů. Na takovém stanovišti se sumec zdržuje po většinu dne s výjimkou doby lovu, při tření a zimování (Baruš a Oliva, 1995; Dyk, 1952). Nároky na kvalitu prostředí jsou dle Dubského a kol. (2003) srovnatelné s kaprem. Je relativně tolerantní vůči znečištění. Potravu přijímá až při teplotě převyšující 10°C. Fülner a kol. (2007) považuje za optimální teplotu při rybničním chovu 25°C. Nicméně bez problému zimuje pod ledem při teplotách okolo 4°C. Vůči množství rozpuštěného kyslíku ve vodě je sumec také poměrně dost tolerantní, avšak při intenzivní akvakultuře je spodní hranice 75 % (Mareš a kol., 2005). Dobře snáší také zabahněné rybníky a zákal vody (Čítek a kol., 1998). Kromě sladkých vod je schopný trvale se zdržovat i ve vodách brakických (Fülner a kol., 2007; Hanel a Lusk, 2005). Růstové schopnosti sumce jsou značné. Například v Pohořelických rybnících na jižní Moravě dorůstal sumec v prvním roce TL = 130 - 280 cm a vykazoval celkovou hmotnost W = 20 - 200g, ve druhém roce TL = 380 - 600 mm a W = 350 - 1340g, ve třetím roce TL = 430 - 735 mm a W = 570 - 3500g, ve čtvrtém roce TL = 750 mm a W = 3,0 kg, v pátém roce TL = 890 mm a W = 4 - 5 kg. V rybničních podmínkách na Třeboňsku byla zjištěna podobná rychlost růstu (Hochman, 1966). V našich podmínkách dochází k výtěru sumců při teplotě 19 – 23°C v průběhu června až začátkem července na kořínky rostlin (Adámek a kol., 2013; Hochman, 1966). Mlčící po celou dobu inkubace hlídají hnízdo a jsou značně agresivní (Dubský a kol., 2003). Hochman (1967) uvádí, že absolutní

plodnost jikernaček o délce TL = 820 – 1560 mm původem z údolní nádrže Orlik, se pohybovala v rozpětí 42 822 – 391 411 jiker. Relativní plodnost se dle Dubského a kol. (2003) pohybuje od 8 do 20 tis ks.kg<sup>-1</sup>. Jikry jsou před nabobtnáním velké okolo 2 mm a po nabobtnání mají 3-3,5 mm. Jsou hnědé, lepivé a jejich inkubační doba činní 55-70°D (Adámek a kol., 2013). Vylíhlé larvy vykazují délku TL = 6-10 mm a na exogenní výživu přechází 3-7 den (Dubský a kol., 2003; Hartmann a Regenda, 2014). Čítek a kol. (1998) uvádí, že letální teplota pro larvy sumce je pod 14°C. Larvy zpočátku loví jemný zooplankton, a s postupně se zvyšující se velikostí postupně loví stále větší zástupce planktonu i bentosu. Od druhé poloviny vegetačního období začíná sumec lovit drobné rybky a od druhého roku je výhradně dravý. Kanibalismus se projevuje zejména ve zhuštěných obsádkách (Adámek a kol., 2013).

### **2.5.2. Význam sumce**

Sumec je významný rybí druh, ceněný hlavně mezi sportovními rybáři, kteří vyhledávají trofejní ryby. Ve volných vodách přispívá k vyváženosti obsádek potlačováním méně hodnotných druhů ryb. Má chutné, relativně tučné maso vhodné především k uzení (Dubský a kol., 2003). Sumec velký je dalším z vhodných druhů pro intenzivní akvakulturu, a to především díky rychlému růstu, relativně nízké náročnosti na prostředí a zajímavé realizační ceně, která se pohybuje od 4 do 9 EUR.kg<sup>-1</sup> (Polícar, 2017 osobní sdělení; Mareš, 2007).

### **2.5.3. Optimální životní podmínky pro chov sumce v podmínkách RAS**

Ryby z čeledi sumcovití a keříčkovití se v poslední době v intenzivních chovech těší velké oblibě a rozvoji. Sumec velký má nutričně velice kvalitní a chutné maso, a díky vhodnosti pro intenzivní akvakulturu se stává pro chovatele stále častěji zájmovým druhem. Sumec je perspektivní především díky rychlému růstu, možnosti chovu v hustých obsádkách, až 250kg/m<sup>3</sup> a relativní toleranci vůči kvalitě prostředí (Kouřil a kol., 2013; Linhart a kol, 2002, Švarc, 2014 osobní sdělení). Vhodná teplota pro chov sumce se pohybuje v rozmezí 21-31°C, ideální teplota z hlediska maximální konverze krmiva je 26-29°C (Adámek a kol., 2015; Kouřil a kol., 2013). Při chovu sumce je nutné zajistit dostatečné nasycení vody kyslíkem. Nežádoucí je pokles pod 75 %. Při odchovu a současném dávkování kapalného kyslíku lze předpokládat spotřebu okolo 1 kg kyslíku na 1 kg přírůstku ryb. V případě, že dojde ke snížení množství rozpuštěného kyslíku, bude se také zvyšovat krmný koeficient (Hamáčková a kol., 1992; Hartmann a Regenda, 2014; Mareš a kol., 2005). Odchov larev v kontrolovaných podmínkách je již

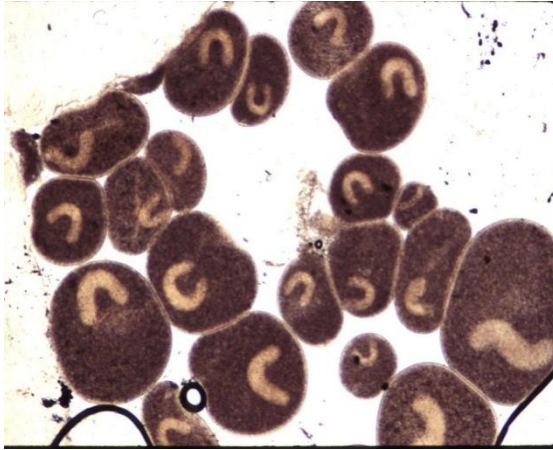
dobře zvládnut. Sumec je zpočátku krmen vhodnou potravou, nejčastěji artémií (*Artemia salina*), či mraženou nebo sušenou přirozenou potravou, která zajistí dostatečný vývoj trávicího traktu. Co-feeding se provádí za pomoci přirozené potravy (nitěnky, mražený plankton) a startérových krmných směsí o obsahu 50-60 % proteinů, 10-15 % lipidů a 5-10 % sacharidů (Król a kol., 2014; Mareš a kol., 2005). Pro odchov tržního sumce jsou v intenzivních podmínkách chovu využity kompletní krmné směsi s obsahem 40-45 % proteinů a 10-16 % tuku (Adámek a kol., 2015; Lhotský, 2004). V RAS je možné, aby nasazené ryby o hmotnosti  $W = 28$  g dorostly do tržní velikosti  $W = 2459\text{g} \pm 589\text{g}$  již za 18 měsíců. Krmný koeficient FCR se pohybuje okolo 1. Při zkušebním odchovu v RAS Agrico Třeboň s.r.o. byl dosažen krmný koeficient při 180 denním chovu 1,03 (Jakobartl, 2016 osobní sdělení). V průběhu celého odchovu sumce je důležité dbát na dostatečnou hygienu prostředí (Dubský a kol., 1998). Sumec se s oblibou otírá o různé předměty a také o samotné stěny nádrží, což může být v případě nadměrného výskytu patogenů šance pro propuknutí nákazy či onemocnění (Hamáčková a kol., 1992). Dle doporučení Fülnera a kol. (1997) je vhodným preventivním řešením provádět až 3x denně očistu povrchů nádrží pomocí houbičky namáčené v 10 % roztoku NaCl. Hamáčková a kol. (1992) konstatuje, že je na místě zbystrit ve chvíli, kdy dojde ke změně chování ryb. Především při shromažďování ryb na přítoku, zdržování se na světlých místech a zpomalení reakce na poklep na stěnu nádrže – zhoršení únikového reflexu.

#### **2.5.4. Hlavní produkční ztráty při intenzivním odchovu sumce**

Při špatně zvládnuté technologii odchovu sumce může významné ztráty způsobovat především u raných odchovávaných stádií kanibalismus. Z toho důvodu je důležité dodržovat správné postupy jako je frekvence krmení, správná hustota obsádek a včasné velikostní třídění ryb. Významné ztráty mohou způsobovat také různá onemocnění. Při špatné hygieně odchoven případně převozem nakažených ryb může dojít k propuknutí protozoóz. Nejčastěji způsobují ztráty například kožovec rybí (*Ichthyophthirius multifiliis*), čepelenka (*Chilodonella sp*), trichodiny (*trichodina sp*), (*tripartiella sp*) a ichtiobodóza (*ichthyobodo necator*) (Hamáčková a kol., 1992). Při vyšších obsádkách a při teplotách nad 29°C je také riziko výskytu bakteriálních nárostů na žábrách nebo výskyt žábrohlistů – (*Dactyrogyrus siluri*) (Dyk, 1952). Navrátil a kol. (2000) uvádí, že se v intenzivním chovu sumce mohou vyskytovat také virová onemocnění například ze skupiny herpesvirů. Základem ochrany před těmito onemocněními je jako vždy

především prevence, poněvadž terapie je vždy nákladná a s nezaručeným výsledkem (Hamáčková a kol 1992; Hartman a Regenda, 2014; Mareš a kol., 2005).

### 2.5.5. Nejčastější patogeny při odchovu sumce velkého a candáta obecného



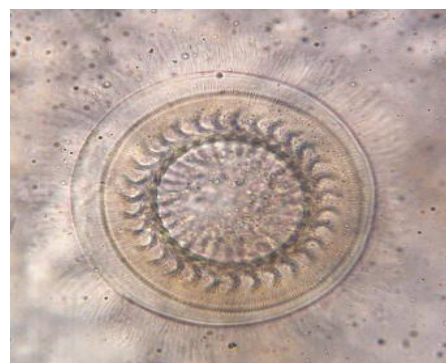
obr.č.1– Kožovec rybí (*Ichthyophthirius multifiliis*) (wikipedia.org)



obr.č.2– Ryba masivně napadená kožovcem rybím (*Ichthyophthirius multifiliis*) ( wikipedia.org)



obr.č.3 – Čepelenka (*Chilodonella sp*) (wikipedia.org)



obr.č.4 – Brousilka rybí (*Trichodina domerguei*) (fishpatogens.net)



obr.č.5-Saprolegnióza (*Saprolegnia sp*)  
(www.protist.i.hosei.ac)



obr.č.6–Saprolegnia (*Saprolegnia sp.*) (researchgate.net)



obr.č. 7 – Ichthyobodoza – (*Ichthyobodo necator*) (zooclub.ru)

## 2.6. Znečištění vody v rybochovných objektech

V intenzivních chovech ryb bývá pravidlem zvýšená koncentrace organických látek díky přítomnosti exkrementů ryb, zbytkům krmiv a zplodinám metabolismu vysokých obsádek chovaných ryb. Takové prostředí je ideálním živným roztokem pro bakterie a další patogeny (Scharrer a Summerfelt, 2007). Čítek a kol. (1997) konstatuje, že původci nemocí ryb jsou schopni ve znečištěné vodě přežít déle než ve vodě čisté. Výše zmíněné faktory v kombinaci s nedodržováním správných zootechnických postupů často způsobují oslabení ryb a výskyt různých zoonóz, bakteriálních i virových onemocnění (Pokorný a kol., 1998; Timmons a kol., 2005). Bebak-Wiliams a kol., (2002) konstatují, že pravidelná a důsledná hygiena prostředí, včetně desinfekce rozvodů vody může vést k výraznému snížení množství patogenů v chovném prostředí. Při napadení ryb parazity, bakteriologickými či mykotickými původci onemocnění, je

oslaben imunitní systém ryb a ve velmi krátké době tak dojde k napadení vnitřních orgánů bakteriemi. Následně se na rybách projeví zjevné příznaky onemocnění, které mohou představovat manifestaci rozpadu ploutví, vyblednutí povrchu těla, skvrny na kůži, záněty kůže i vnitřních orgánů, nekrózy žaber, vodnatelnost, vyhublost a apatické chování ryb (Scharrer a kol., 2005; Summerfelt a kol., 2004). Zhoršený zdravotní stav obsádky spolu s nadměrnými úhyny a produkčními ztrátami snižují množství ryb a tím pádem zhoršují rentabilitu chovu (Schram, 2008). Desinfekce vody je v intenzivních chovech ryb prakticky nezbytná. Hlavním cílem, je udržet kvalitu vody na vysoké úrovni, případně na úrovni odpovídající nárokům dané rybí obsádky. Ve vodních zdrojích bývají také často zárodky patogenů, parazitů nebo přímo patogeny samotné. Pokud je zdrojem voda povrchová, je to spíše pravidlem. Bakteriální a virová onemocnění patří mezi nejzávažnější problémy v intenzivní akvakultuře (Kouřil a kol., 2013; Pokorný a kol., 2003).

## **2.7. Nemoci ryb v intenzivních chovech**

Nemoc je poruchou fyziologických funkcí a životních projevů organismu, vzniklá působením patogenních podnětů. Onemocnění se u ryb nejčastěji projevuje obecnými příznaky, jako jsou změny chování – nekoordinované pohyby, nepřírozená poloha těla, snahou uniknout z prostředí výskoky nad hladinu či vyplouvání ryb k přítokům do nádrží, apatie, nezáměr o potravu a také zvýšenou podrážděností. Onemocnění ryb se projevuje také fyziologickými změnami funkcí organismu, jako jsou změna frekvence i způsob dýchání. Příčinou onemocnění organismu je vliv takového činitele, který určuje specifickou a bez něhož nemůže dané onemocnění vzniknout. Příčiny vyvolávající nemoc působí v komplexu specifických podmínek, a nikdy neexistují izolovaně. Tyto příčiny lze dle povahy rozdělit na vnitřní a vnější (Svobodová a kol., 2007).

### **2.7.1. Vnější příčiny onemocnění**

Mechanické – poškození organismu, působením mechanické síly – oděrky kůže, otlaky, odřeniny, zhmožděniny, zlomeniny apod.

Fyzikální – působením nízké/vysoké teploty, nedostatku či nadbytku kyslíku, elektřinou apod.

Chemické – především se jedná o vliv pH či výskyt různých toxických látek ve vodě, které jsou pro ryby jedovaté a způsobují akutní otravy – kyseliny, amoniak, těžké kovy, pesticidy apod.

Biologické – patogenní vlivy – bakterie, viry, plísňe a parazité

### **2.7.2. Vnitřní příčiny onemocnění**

Imunita – Odolnost organismu vůči určitým infekčním nemocem. Jedná se o vliv protilátek v těle.

Tělesná konstituce - má velký vliv na vznik onemocnění. Cíleným šlechtěním, se konstituce zlepšuje, naopak při nesprávné plemenitbě je jedinec náchylnější.

Odolnost organismu – je ovlivněna dědičným základem, ale i získanými vlastnostmi. Jedná se především o vytváření optimálních životních podmínek pro růst a vývoj zvířat dodržováním zoohygienických zásad chovu (Svobodová a kol., 2007).

## **2.8. Vyšetření zdravotního stavu ryb**

Jedním z hlavních limitujících faktorů úspěšného chovu ryb je jejich dobrý zdravotní stav. Jen zdravá ryba se úspěšně rozmnožuje, poskytuje kvalitní reprodukční materiál, plně přijímá i využívá předkládanou potravu a dorůstá do požadované velikosti/hmotnosti v co nejkratším čase. Právě proto, je sledování zdravotního stavu chovaných ryb součástí pravidelné chovatelské péče (Svobodová, 2007). Konec konců je kontrola zdravotního stavu ryb pro chovatele povinná V souladu s § 44 odst. 1 písm. d) zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, stanovuje Ministerstvo zemědělství povinné preventivní a diagnostické úkony k předcházení vzniku a šíření nálezů a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, jakož i k jejich zdolávání (SVS, 2017). Vyšetření zdravotního stavu ryb můžeme rozdělit na vyšetření v terénu a v laboratoři.

### **2.8.1. Terénní vyšetření**

#### **Reflexy**

Únikový reflex – ačkoli tento postup zní celkem banálně, dokáže o aktuálním zdravotním stavu ryb, případně při přidružení prozradit více než se zdá. U zdravých ryb je jeho projevem snaha uniknout před nebezpečím do úkrytu při záchvěvu půdy, pohybu

vodní hladiny, při dopadu stínu na hladinu apod. Nemocné či přidušené ryby ztrácejí plachost a nechají se snadno ulovit.

Obranný reflex – vylovené ryby se snaží uvolnit z uchopení, zmítají se na podložce ve snaze vrátit se zpět do vody

Ocasní reflex – při uchopení ryby v poloze na boku za hlavu a přední část trupu a jejím současném zvednutí nad podložku ryba volnou zadní část těla udržuje vodorovně, nebo se o to alespoň snaží v krátkých intervalech. Ocasní ploutev je přitom plně roztážená. U nemocné ryby visí zadní část těla a ocas ochable dolů bez snahy napřímit jej.

Oční reflex – u živé ryby zůstává oko při otočení bok v horizontální poloze, jinak řečeno se oko neotočí s tělem (Svobodová a kol., 2007).

### **Povrch těla ryby**

Kůže – posuzujeme její zbarvení a šupiny (Zda odpovídají druhu, věku a životnímu prostředí ryby), Množství hlenu a případnou přítomnost lupou či okem viditelnost parazitů. Okem lze spatřit například kapřivce, kožovce, chobotnatky a apod.

Žábry - u zdravých ryb jsou jasně červené, pravidelného tvaru a pokryté tenkou vrstvou průhledného hlenu. Při infekčních onemocněních nebo při napadení parazity – a při otravách jsou žábry patologicky změněné – světlé nebo skvrnité, nápadně anemické, tmavě hnědé až čokoládové barvy, cyanotické – (fialově červené), s přítomností krvácenin, nebo vykrojené s nerovnými okraji

Oko – oční bulva u zdravých ryb mírně vystupuje a zbarvením odpovídá druhu a věku ryby. U nemocných ryb je oko zapadlé (exoftalmus) či vystouplé (exoftalmus), zakalené a podobně.

Močopohlavní papila – u zdravých ryb je vtažená a nepřekrvená. V předvýtěrovém období a při výtěru jikernaček je více prokrvená a vystupuje nad povrch těla. U nemocných ryb bývá řiť vyhřezlá, překrvená a zduřelá (Svobodová a kol., 2007).



## **Výživný stav**

Posuzujeme dle osvalení z patrného tvaru těla. Zdravé ryby jsou i po delším hladovění v dobrém výživném stavu. Vyhublost se projeví až po značném úbytku tuku ze svaloviny a z podkoží (Svobodová a kol., 2007).

### **2.8.2. Laboratorní vyšetření ryb**

V laboratoři se provádějí vyšetření v případě podezření na onemocnění, při zjevném onemocnění nebo z preventivních důvodů. Používají se metody v terénu neuplatnitelné, a tak je možné zjistit podrobný aktuální zdravotní stav odchovávaných ryb zejména z pohledu bakteriologie, virologie, imunologie a apod. (Svobodová a kol., 2007). Mezi nejčastěji využívané laboratorní metody patří stěry z kůže či žaber, mikroskopie, kultivace virů a bakterií (osobní sdělení Polícar, 2018).

### **2.9. Potřeba desinfekce v akvakultuře**

Odchovávané ryby jsou v důsledku vysokých obsádek, snížené kvality vody a manipulačního stresu citlivé k onemocnění (Liltved, 2003). Pouze pravidelná a správná desinfekce odchovných zařízení, náradí včetně manipulačních prostor a přepravních nádob v rybochovných objektech patří k hlavním preventivním opatřením, která chrání intenzivní chovy ryb, a tak zlepšuje ekonomiku celého chovu (Pokorný a kol., 2003).

### **2.10. Metody desinfekce**

V rybářství jsou za účelem zlepšení hygieny prostředí nejčastěji aplikovány takzvané desinfekční koupele. Tyto koupele lze rozdělit na koupele krátkodobé, kdy se do předem připravené lázně s účinnou látkou ponoří ryby nebo příslušenství k odchovu a manipulaci na dobu nejdéle 5 minut. Další variantou jsou střednědobé koupele, jenž trvají 5 minut až 2 hodiny a dlouhodobé koupele kde je doba expozice 2 hodiny až několik dní (Svobodová a kol., 1987). Dle Pokorného a kol. (2003), lze v oboru chovu zvířat rozdělit dva způsoby ochrany chovaných zvířat před nákazou, a to na preventivní a ohniskové. V extenzivních a polointenzivních podmínkách se nejčastěji desinfekce aplikuje v momentě výskytu problému, naproti tomu v intenzivních chovech se nejčastěji používá desinfekce preventivní, a to v podobě stacionárních desinfekčních jednotek. Je možné aplikovat také běžné koupele za použití desinfekčních přípravků, avšak je třeba brát ohled na vliv účinné látky na biofiltr. Nejčastěji jsou takové desinfekční přípravky aplikovány v momentě rozvoje patogenů (Polícar, 2018 osobní sdělení). Jako nejefektivnější a nejčastěji používané způsoby desinfekce

v recirkulačních systémech jsou označovány UV záření a ozonizace vodního prostředí (Kouřil a kol., 2013). Liltved (2003) konstatuje, že jako stacionární zdroj desinfekce v akvakultuře lze využít také halogenaci (chloraci) nebo desinfekci za pomoci peroxidu vodíku. Avšak peroxid vodíku se navzdory svému okysličovacímu potenciálu ukázal jako problematický, a to kvůli vlivu na patogenní bakterie, jenž jsou schopny produkovat enzymy rozkládající kyslíčník jako katalázu či peroxidázu.

## 2.11. Desinfekční přípravky používané v rybářství

Při optimalizování preventivní desinfekce se vychází z poznatků úpravy pitných a odpadních vod. Důležité je přihlídnutí především ke specifickým potřebám akvakultury. Pozornost je přikládána zejména cílovým organismům, reziduálním koncentracím, vedlejším produktům, složení vody a nakonec specifickým post desinfekčním účinkům (Liltved, 2003). Desinfekční prostředek musí zaručovat především konečný 100 %ní účinek. Jsou ale důležitá i další hlediska, jako jsou nákladová cena a charakter účinné látky. Při pořízení je také důležité zamyslet se nad používanou koncentrací, minimální teplotou nutnou k dostatečné účinnosti, metodě aplikace a charakteru účinných látek (Seydlová a Seydl, 1997).

tab.č. 1 – Přehled nejčastěji užívaných desinfekčních přípravků v rybářství dle Pokorného a kol., (2003)

<b>Přípravek</b>	<b>Použití</b>	<b>Účel</b>
<b>Manganistan draselný</b>	<b>Všechny ročníky kromě jiker</b>	<b>Achlia/saprolegnia, bakterie, paraziti</b>
<b>Chlorid sodný</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Paraziti, plísně i prevence při krmení</b>
<b>Formaldehyd</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Costia, trichodina, gyrodactylus, dactyrogurus, chilodonella, piscicola</b>
<b>Bio Care SPC</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Ektoparaziti</b>
<b>Mertiolát sodný</b>	<b>Jikry lososovitých</b>	<b>Bakteriální nákazy</b>
<b>Jodisol</b>	<b>Jikry</b>	
<b>Jodonal</b>	<b>Jikry lososovitých</b>	<b>Bakteriální nákazy</b>

<b>Modrá skalice</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Kolumaróza, cytofagóza, bakteriální onemocnění žaber</b>
<b>Chloramin B</b>		
<b>Wescodyne</b>	<b>Jikry</b>	
<b>Hydroxid vápenatý</b>	<b>rybníky a sádky vč. obsádek</b>	<b>Prevence</b>
<b>Oxid vápenatý</b>	<b>rybníky a sádky vč. obsádek</b>	<b>Prevence</b>
<b>Dusíkaté vápno</b>	<b>rybníky a sádky</b>	<b>Speciální účely</b>
<b>Hydroxid sodný</b>	<b>Nářadí, bazény</b>	
<b>Chlorseptol</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Bakteriální onemocnění</b>
<b>Chlorové vápno</b>	<b>Všechny ročníky včetně jiker</b>	<b>Bakteriální onemocnění</b>
<b>Ozonizace</b>	<b>Voda pro líhně, odpadní voda</b>	
<b>Chlorace</b>	<b>Voda pro líhně, odtékající voda</b>	
<b>UV záření</b>	<b>Voda pro líhně</b>	

## 2.12. Chlorace – Halogenace

Desinfekce vody chlorací je poměrně dobře známou metodou, používanou již více než 100 let. Díky dlouhé historii používání chlóru jsou jeho vlastnosti dobře známy. Nejčastěji je aplikován v plynné nebo kapalně formě. Chlór je velmi účinný desinfekční prostředek s oxidačním účinkem i reziduální charakterem, a proto je pro jeho vlastnost – zbytkové reziduální koncentrace vhodný především pro pitné vody a bazény. V akvakultuře se právě díky reziduím a době jejich působení 2-3 hodiny ukázal jako nevhodný, poněvadž má negativní vliv na ryby (Klimša, 2008). Dle Pokorného a kol. (2003), by měla být maximální koncentrace volného chloru do  $0,1\text{mg.l}^{-1}$ , proto je chlorace vhodná pouze pro desinfekci líhní, rybářského náčiní a odchovných prostor mezi turnusy.

## 2.13. UV záření

### 2.13.1. Historie UV

Za jednoho z prvních objevitelů UV záření lze považovat německého vědce J. W. Rittera, který pozoroval zvláštní krátkovlnné záření a jeho vliv na chlorid stříbrný (Diffey, 2002). Vědci Downes a Blunt (1877) si všimli baktericidního účinku. V roce 1892 byla zkonstruována první rtuťová lampa, následně bylo zjištěno, že klasické sklo nepropouští většinu UV záření, díky tomuto objevu byla v roce 1905 vyrobena lampa z křemíkového skla (Sommer a kol., 2002). Ve vodárenství byla desinfekce za pomoci UV poprvé využita ve francouzském Marseille v roce 1910 (Hijnen a kol., 2009).

### 2.13.2. Využití UV v úpravě vody

Ultrafialové záření neboli UV záření může být přirozené i umělé světlo, které má schopnost poškozovat mikroorganismy, a to ať už přímo tak i nepřímo měněním nukleových kyselin. Přímé poškození DNA vzniká absorpcí záření a ústí do vytváření fotoproduktů (Liltved, 2003). Toto záření je charakterizováno vlnovou délkou od 190 do 400 nm (Kouřil a kol., 2013; Liltved, 2003; Pokorný a kol., 2003). Můžeme jej rozdělit na 3 druhy dle účinnosti (absorbance). UV-C záření v rozsahu (190-280 nm) má nejvyšší účinnost, asi 3x menší účinek má záření UV-B (280-320 nm) a UV-A v rozmezí (320-400nm) má zanedbatelný požadovaný vliv na mikroorganismy (Kouřil a kol., 2013; Liltved, 2003). V případě, že je UV záření kombinováno s ultrafiltrací, stává se jednou z neúčinnějších desinfekčních metod. Hlavní výhodou tohoto postupu je absence jakéhokoli desinfekčního prostředku, a tak nedochází ke tvorbě indukovaného znečištění, jako je tomu například u chlorace (Berka a kol., 1980; Hanzon a Vigilia, 1980). Další výhodou je, že UV působí jen v místě vyzařování. Protože se záření nedostane do odtékající vody, není možné poškodit mikroflóru v biofiltrech a tím snížit jejich účinnost (Berka a kol., 1980). V praxi jsou používány UV sterilizátory o vysokém výkonu, které zajistí dostatečnou desinfekci vody při vysokém průtoku. Ovšem to nemění nic na tom, že účinek použití UV záleží především na optimalizovaném průtoku kolem výbojek, síle vrstvy vody a na její průhlednosti (čím vyšší průhlednost, tím vyšší účinek a naopak). Obecně lze biocidní účinek charakterizovat součinem intenzity záření a doby jeho působení (Svobodová a kol., 1997). V laboratorních podmínkách bylo prokázáno, že dávka na úrovni 2-6 mWs/cm<sup>2</sup> eliminuje mikroorganismy s úspěšností 99,9 %. V provozních podmínkách je ovšem za

potřebí vyšších dávek. Pro likvidaci ISA viru, způsobujícího infekční anémii lososů je zapotřebí dávka na úrovni 4-10 mWs/cm<sup>2</sup>. Pro likvidaci titru viru v brakické vodě je zapotřebí aplikovat mimořádnou dávku až 122 mWs/cm<sup>2</sup>. IPN vir je proti běžným dávkám UV záření resistantní. Aby byla zajištěna likvidace IPN viru, bylo by třeba aplikovat dávku více než 30ti násobnou, než je běžná dávka. To je z hlediska praktičnosti, zpomalení průtoku a energetické náročnosti nedosažitelné (Liltved, 2003).

### **2.13.3 UV výbojky**

Účinek poškozování DNA mikroorganismů je využíván v nízkotlakých rtuťových lampách, které produkují 85% světla o vlnové délce 253,7nm. Celkové produkované záření je v optimálním rozsahu od 250 do 270nm (Liltved, 2003). Výbojky mají životnost okolo 5 000 hodin a příkon od 20 do 60W.

## **2.14. Ozonizace**

### **2.14.1. Vlastnosti ozonu a historie jeho využití a výroba**

Kyslík se kromě běžné dvouatomové molekuly může vyskytovat také v podobě tříatomové molekuly. Ozon neboli O<sub>3</sub> je za pokojové teploty vysoce nestabilní namodralý plyn s charakteristickým zápachem. Ozon je ve vodě asi 10x rozpustnější především díky jeho vlastnosti, rychle se redukovat (Bopp a Fairchild, 1967). Je nutné zmínit, že rychlost rozpadu ozonu ve vodě je závislá na několika důležitých fyzikálně chemických parametrech. Jedním z nejdůležitějších faktorů je obsah látek schopných oxidace, teplota, pH a také případné nerozpuštěné látky. V případě, že je v ošetřované vodě vysoký obsah oxidovatelných organických a anorganických látek, rozpadá se velmi rychle. Naopak v destilované vodě se ozon rozkládá velmi pomalu (Žáček, 1981). Ozon neboli molekula O<sub>3</sub> je velmi reaktivní baktericid a virucid (Liltved, 2003; Timmons a kol., 2005). Ozonizace v úpravně pitné vody byla poprvé využita v roce 1893 ve Francii (Asio.cz). Hojně začala být ozonizace ve vodárenství využívána po druhé světové válce v zemích, kde bylo možno získávat levnou elektrickou energii. Ozon vzniká rozštěpením dvouatomové molekuly kyslíku na elementární kyslík. Tyto volné atomy se poté spojí s molekulou kyslíku za vzniku tříatomové molekuly. Obvykle se ozon vyrábí přímo v místě jeho spotřeby v ozonizátorech. Využívá se průtoku kyslíku mezi elektrodami s vysokým napětím 8-20 tis. voltů o frekvenci 50-500 Hz (Martoň, 1984; Scharrer a Summerfelt, 2007).

### 2.14.2. Využití ozonizace v akvakultuře

Ozon nachází široké uplatnění v akvakultuře, poněvadž má vysokou reakční rychlost a ve sladké vodě produkuje jen velmi málo škodlivých vedlejších produktů (Kouřil a kol., 2013). Zvyšování kvality vody a její desinfekce za pomoci ozonizace se prosazuje především v recirkulačních systémech a v chovech akvariálních ryb (Kolářová a kol., 2016; Liltved, 2003). Jedním z nejúčinnějších způsobů, jak udržet kvalitu vody na vysoké úrovni je kombinace mechanické filtrace a vhodného způsobu desinfekce. Pro mechanické odstranění nerozpuštěných látek se nejčastěji používají bubnové mikrosítové filtry. Za účelem desinfekce vody se používá UV záření, ozonizace nebo kombinace obou metod (Summerfelt a kol., 1997). Liltved (2003) uvádí, že bakterie a viry patogenní pro ryby jsou vysoce citlivé na reziduální ozon ve vodě. V případě dosažení reziduální koncentrace 0,1 - 0,2 mg/l<sup>-1</sup> v odchovnách a 0,3 - 0,4 mg/l<sup>-1</sup> ve vodě odtékající z odchoven ryb je legálně zajištěna dostatečná inaktivační úroveň vůči patogenům. Výhodou ozonizace oproti UV záření je například virucidní aktivita vůči IPN viru. Konkrétně bylo ověřeno, že v případě aplikace ozonu s následnou reziduální koncentrací na úrovni 0,3 – 0,4 mg/l<sup>-1</sup> po dobu 60 s byla zajištěna více než 99,9%ní inaktivace viru IPN. Dle Svobodové a kol. (2007), je ozonem upravená voda je také vhodná pro desinfekční koupele oplozených jiker za účelem redukce či eliminace potenciálních patogenů. Řada studií prokázala, že ozonizace vody v rybochovných objektech má za následek významné snížení množství rybích patogenů. Kupříkladu Colberg a Lingg (1978) dokázali, že při použití ozonu o reziduální koncentraci 0,12-0,50 mg/l<sup>-1</sup> bylo dosaženo snížení výskytu 4 sledovaných významných rybích patogenů o více než 99,9%. Jednalo se o bakterie druhu *Aeromonas liquifaciens*, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas fluorescens* a *Yersinia ruckerii*. Scharrer a Summerfelt (2007) konstatují, že kromě virucidního účinku je ozon schopný odstraňovat zákal vody, snižovat množství dusitanů a udržovat řasy na nízké úrovni.

### 2.14.3. Mechanismus účinku ozonu na buňky

Pokusy s ozonem a jeho vlivem bakteriální buňky prokázaly, že při vystavení buněk účinkům ozonu způsobuje změny v membránové struktuře, které vedou k propouštění bílkovinných a nukleových kyselin spolu s oxidací lipidů. Vnitrobuněčné složky, bílkoviny a DNA zůstávají na druhé straně membrány neporušené. Při prodloužení expozice ozonu dochází ke snížení životaschopnosti buněk a zintenzivnění propouštění DNA a oxidace lipidů (Liltved, 2003).

#### **2.14.4. Technologické řešení aplikace ozonu**

Nejjednodušší, ale také nejméně účinné je probublávání plynného ozonu z různých typů perforovaných těles umístěných ve vodním sloupci. Další možností je mechanické směšování ozonu s vodou rotorem ve směšovacím prostoru, nebo využití koncentračního spádu. Existují i další technická řešení. Nejčastěji je aplikováno 4-5 g čistého ozonu na 1 m<sup>3</sup>, aby bylo po 10 minutách dosaženo koncentrace 0,2 g/m<sup>3</sup>. V organicky zatížených vodách je možné dávku zvýšit a u velmi čistých vod je vhodné dávku snížit i na 1 g/m<sup>3</sup> (Martoň, 1984; Scharrer a Summerfelt, 2007).

#### **2.14.5. Deozonizační zařízení**

Díky akutní toxicitě reziduálního ozonu vůči vodním organismům je zapotřebí zařazovat deionizační jednotku. Často stačí zajistit několikaminutové zdržení vody, nebo je možné přidávat malá množství redukčního činidla (Liltved, 2003). Scharrer a Summerfelt (2007) popisují výzkum, kdy byla použita ozonizace vody s nasycením na úroveň 0,1mg/l s následným UV ozářením o intenzitě 49 mWs/cm<sup>2</sup>, které má za následek odstranění 100% ozonu a také konečný výsledek odstranění téměř 100% mikroorganismických heterotrofních bakterií ve sladkovodním recirkulačním systému.

#### **2.14.6. Bezpečnostní rizika při práci s ozonem**

Ozon je díky svým silným oxidačním účinkům pokládán za silně toxickou látku. Díky hojnému využívání ozonu různých odvětvích po celém světě, byly stanoveny toxikologické a pobytové limity (Summerfelt a kol., 2008). V případě vdechnutí ozonu dochází k podráždění sliznic dýchací soustavy. V další řadě má pak ozon negativní vliv na centrální nervovou soustavu. Dle Bobb a Fairchild (1967), byly účinky na organismus pozorovány již od koncentrace 0,3-0,8ppm. V USA je dokonce stanoven limit pro pobyt zaměstnanců v prostředí s možným výskytem ozonu, který je 0,1ppm po dobu 8 hodin nebo koncentrace 0,3ppm po dobu 10 min. K usmrcení vodních živočichů dochází už při překročení koncentrace 5ppm. U suchozemských živočichů je život ohrožující koncentrace řádově vyšší, jedná se o koncentraci více než 6500ppm. K výraznějšímu poškození orgánů dochází při zvýšené fyzické aktivitě organismů (Stokinger, 1965). V případě dlouhodobého pobytu v prostředí s ozonem dochází ke změnám na dýchacích orgánech, které mají za následek sníženou schopnost dýchání (Stokinger, 1957). Dle ILO (1971), je pobyt v prostředí, byť s nižší koncentrací ozonu nebezpečný kvůli možnému trvalému poškození dýchacích orgánů.

### **3. Materiál a metodika**

#### **3.1. Materiál**

##### **3.1.1. Místo a termín uskutečnění pokusu**

Pokus byl uskutečněn v experimentální hale Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Fakulty rybářství a ochrany vod, Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech (FROV VÚRH JU). Pokus byl zahájen 5.9.2016 a ukončen po 231 denním odchovu dne 24.4.2017. Všechna pozorování a vyšetření probíhala na FROV VÚRH JU ve Vodňanech s výjimkou Laboratorního bakteriologického vyšetření vzorků ryb a vody z odchovných nádrží, jenž probíhalo na Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie (Fakulta veterinárního lékařství, VFU Brno).

##### **3.1.2. Popis použitých RAS**

Pro pokus byly použity 2 identické RAS systémy, které byly tvořeny 10 odchovnými nádržemi (každá o objemu vody 1500 litrů), mechanickým bubnovým filtrem o minimálním průtoku vody 15 000 litrů za hodinu, biologickým filtrem s pohyblivým ložem a filtračním médiem o objemu vody 15 000 litrů, elektrickým ohřevem vody, směšovačem kyslíku a přítokovým a odtokovým potrubím. Tyto systémy byly vybaveny generátorem ozónu (model OT 10, který produkuje ozón ze vzduchu bez prachu a oleje s maximálním výkonem 10 g ozónu za 1 hodinu při průtoku vzduchu 4-10 litrů za minutu). Ozón z generátoru byl pod tlakem (max – 40 kPa) při maximální pracovní teplotě 40°C a relativní vlhkosti vzduchu (80 %) přiváděn přes regulační ventil, barometr a zpětný ventil do injektoru, kterým protékala voda pomocí čerpadla z biologických filtrů a kde docházelo k ošetření vody ozónem. Následně takto ozonizovaná voda protékala pískovým filtrem, který byl naplněn aktivním uhlím. Tohoto filtru se v daném RAS systému využívalo k odbourávání zbytkového ozónu, čímž se zabránilo k jeho vniknutí dále do systému potažmo do odchovných nádrží. Vyšší koncentrace zbytkového ozónu v odchovných nádržích by mohla totiž způsobit neočekávané masové úhyny ryb či jejich jiné fyziologické poškození.

##### **3.1.3. Anestetikum**

Pro usnadnění práce s rybami, především při stanovení biometrických ukazatelů byla v průběhu celé diplomové práce použita lázeň hřebíčkového oleje o koncentraci 0,033 ml.l<sup>-1</sup> (Kolářová a kol., 2007).



### 3.1.4. Desinfekční přípravky

Po manipulaci s rybami byly preventivně aplikovány desinfekční přípravky, jako je kuchyňská sůl, formaldehyd od firmy Kulich s.r.o. (Česká republika) nebo chloramin T od firmy Schulke Mayr (Česká republika). Tyto přípravky byly aplikovány také při zjištění přítomnosti bakteriálních patogenů za účelem jejich eliminace a to podle (Polícar a kol., 2014; Zusková a kol., 2011)

tab.č.2 – Používané desinfekční přípravky v experimentu

Přípravek	Popis	Použití	Účinná dávka
Kuchyňská sůl NaCl	Běžná kuchyňská sůl	Aplikace do RAS	3kg.m <sup>3</sup> po 30min.
Formaldehyd (formalín)	Čirá kapalina - 38%	Aplikace do RAS	15ml.m <sup>3</sup> po 24hod.
Chloramin T	Bílý rozpustný prášek	Aplikace do RAS	20mg.l po 24hod.

### 3.1.5. Použité nářadí a pomůcky

K manipulaci s rybami byly použity saky a vhodnými velikostmi ok vzhledem k velikosti ryb. Ke kontrolnímu měření celkové délky ryb bylo použito klasického měřidla využívaného k biometrickému měření ryb. Laboratorní makroskopická vyšetření byla prováděna za pomoci standartního laboratorního vybavení (preparační sada). Celková délka ryb byla měřena s přesností na 1 mm. Ke kontrolnímu vážení hmotnosti odchovávaných ryb bylo využito digitálních vah Mettler AE 200 (od firmy Mettler Toledo s.r.o. Česká republika) s přesností vážení na 0,01 g. Stanovení fyzikálně-chemických parametrů vody probíhalo pomocí několika přístrojů. Množství rozpuštěného kyslíku bylo měřeno pomocí Oxymetru 3205 od firmy WTW s.r.o. (Česká republika). Oxidačně redukční potenciál byl měřen pomocí kapesního pH metru 3110 od firmy WTW s.r.o. (Česká republika) s ORP elektrodou. pH, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> byly měřeny stacionárním pH metrem od firmy WTW s.r.o. (Česká republika) a absorpční spektrofotometrií v chemické laboratoři FROV JU. Biologická spotřeba kyslíku (BSK<sub>5</sub>) byla stanovena na přístroji OxiTop podle normy DIN 38409. Nerozpuštěné látky (NL 105) byly stanoveny jako optická hustota nerozpuštěných látek na vlnové délce 720 nm ve vodě, pomocí ručního AquaPen-C, AP-C 100 od výrobce Photon Systems Instruments s.r.o. (Česká republika). Pro stanovení míry oxidativního stresu u ryb byl využit Ultra Turrax homogenizátor (Ika, Německo). Aby bylo možné stanovit ukazatele jako SSI, HSI a VSI bylo nutné využít váhu s vysokou citlivostí a

přesností. Tyto požadavky splňovala váha KERN-ABT 220-SDM, s přesností 0,0001g od firmy KERN & SOHN GmbH (Německo).

## **3.2. Metodika**

### **3.2.1. Organizace experimentu**

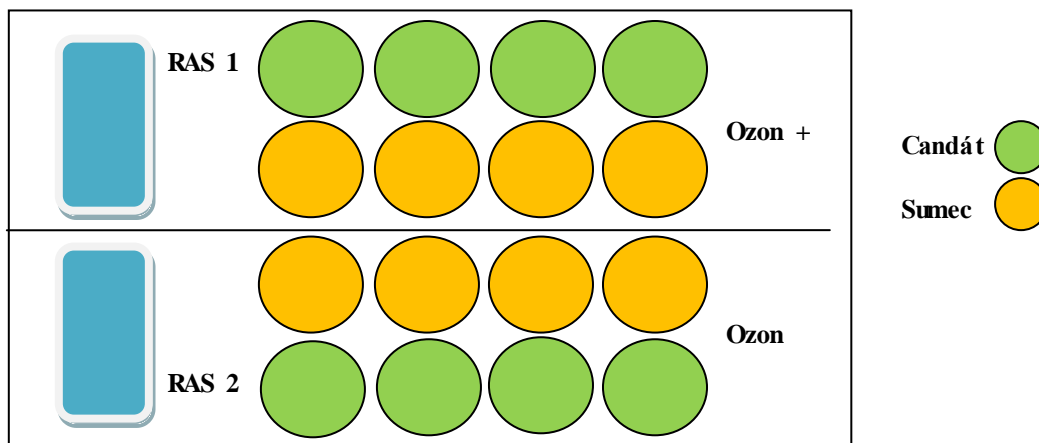
Již tři týdny před začátkem samotného pokusu byly RAS vyčištěny a napuštěny vodou z vodovodního řádu. Další fází byl rozběh biofiltrů při nižší intenzitě krmení ryb. Dne 5.9. 2016 byly ryby změřeny a zváženy a následně rozsazeny do jednotlivých nádrží v daných počtech. Ozon byl aplikován do jednoho ze dvou systémů od 1. do 105. kontinuálně a pak od 106. do 231. dne v periodicky se opakujících intervalech kvůli vyhodnocení kontinuálního a periodického vlivu ozonizace vody především na přežití a zdravotní stav odchovávaných ryb a kvalitu vody. Postupně se začalo s krmením ryb a také sledováním fyzikálně-chemických parametrů vody. Experiment byl také rozdělen do 9 dílčích období po 21 dnech. V pravidelných intervalech, byly také odebírány vzorky ryb pro laboratorní vyšetření zdravotního stavu a dalších parametrů. Po 231 dnech odchovu byl experiment ukončen.

### **3.2.2. Nasazení ryb do RAS**

Dne 5.9. 2016 se uskutečnilo stanovení sledovaných biometrických ukazatelů u candátů i sumců. Všechny ryby byly pochopitelně již dříve adaptovány na peletované krmivo. V levé části haly nebyl RAS ošetřen ozonem a experimentální ryby zde byly označovány jako „candát ozon – a sumec ozon –“. V pravé části haly byl RAS ošetřen ozonem, a proto zde byly experimentální ryby označovány jako candát „ozon + a sumec ozon +“. Do každé nádrže bylo na začátku experimentu nasazeno 500 ks candáta obecného (TL = 102,5 – 103,2 mm a W= 9,1 – 9,2 g; viz tab. č.3). Celkem bylo k experimentu na obou pracovištích použito dohromady 4000 ks experimentálních ryb candáta obecného. Jednalo se o 4 odchovné nádrže v každém RAS. A také bylo na začátku experimentu do každé nádrže nasazeno 200 kusů experimentálních ryb sumce velkého (TL = 137,0 – 138,8 mm a W= 20,2 – 21,1 g; viz tab. č.3). Celkem bylo k experimentu použito 800 ks experimentálních ryb sumce velkého. Jednalo se o dvě odchovné nádrže v každém RAS

Tabulka č.3. Zjištěné průměrné biometrické ukazatele ryb na začátku experimentu

Druh ryby	Ryby s ozonizací			Ryby bez ozonizace		
	W (g)	TL (mm)	SL (mm)	W (g)	TL (mm)	SL (mm)
candát	9,2 ± 2	102,5 ± 8,1	89,1 ± 7,1	9,1 ± 2	103,2 ± 8,2	88,9 ± 7,3
sumec	21,1 ± 6,3	138,8 ± 13,5	127,9 ± 12,9	20,2 ± 6	137,0 ± 13,4	125,8 ± 12,7



obr.č.8 – náčrt umístění systémů v hale včetně způsobu rozmístění ryb do odchovných nádrží.

### 3.2.3. Ozonizace vody v RAS1

V rámci experimentální skupiny umístěné v RAS 1 (skupina ryb s ozonizací, candát ozón + a sumec ozón +) byla část vody odtékající z biologického filtru v prvním období experimentu (období od 1. do 105. dne odchovu) kontinuálně po dobu 24 hodin denně ošetřena ozónem v dávce 2,5 gramu za hodinu. To znamená, že zmíněný systém byl za celý den ošetřen 60 gramy vyrobeného ozónu. V druhém období (od 106. do 231) byla využita jen periodická ozonizace vody, kdy výrobek ozónu, který vyráběl zvýšenou produkci ozónu (10 gramů ozónu za hodinu), byl každý den spuštěn v 7:00 a vypnut v 13:00, což představuje 6 hodin provozu, systém byl tedy ošetřen celkem 60 gramy ozónu za den. Cílem dvou odlišných způsobů ozonizace vody bylo zjistit jaký má vliv na ryby vyšší dávka aplikovaná krátkodobě proti kontinuální dotaci odchovné vody nižší dávkou ozónu. Sledován byl vliv na tyto parametry: přežití odchovávaných ryb, kvalita vody včetně zákalu vody, oxidačně redukční potenciál vody, prevalence parazitárního a bakteriálního onemocnění ryb, bakteriální kontaminace vody a stupně poškození jater. Naopak některé sledované parametry, jako jsou: specifická rychlost růstu (SGR), koeficient konverze krmiva (FCR), Fultonův koeficient (FK), stav a poškození ploutví, fyziologický stav ryb zahrnující hmotnostní podíl sleziny, jater a tělního tuku, senzorické hodnocení svaloviny odchovaných ryb, histologické vyšetření

žaber a oxidativní stres byly hodnoceny pouze na konci nebo na začátku a konci celého experimentu, jelikož se předpokládalo, že kontinuální či periodická ozonizace vody nebude mít významný vliv na dané sledované parametry, které jsou především ovlivněny věkem a výživou ryb, či chronickým působením ozonizace vody. Veškeré výsledky tohoto projektu a realizovaného experimentu jsou uváděny jako průměrné hodnoty z odchovu obou druhů a obou testovaných skupin.

### 3.2.4. Krmení ryb

Krmný den začínal v 7:00 a končil v 19:00. Trval v průběhu celého světelného dne. Denní krmná dávka byla stanovena na 2 % z aktuální biomasy ryb v dané nádrži. Během zmíněného období krmení byly ryby krmeny pomocí pásových hodinových krmítek (krmítko s kapacitou 5 kg krmiva). Množství spotřebovaného krmiva bylo evidováno pro účely pozdější kalkulace koeficientu konverze krmiva. Během experimentálního odchovu byla předkládána následující krmiva firmy Biomar popsaná v tabulce č. 4. Krmivo Inicio 917, 1,5 mm bylo předkládáno v průběhu první fáze experimentu do 105. dne u candáta obecného a do 84. dne u sumce velkého. U candáta obecného následně až do konce experimentu bylo předkládáno krmivo Inicio 702, 2 mm. U sumce velkého bylo krmivo Inicio 702, 2 mm předkládáno od 85. dne do 147. dne odchovu a následně bylo aplikováno krmivo Efico alpha 717, 3 mm až do konce experimentu.

tab.č.4. - Nutriční hodnoty použitých krmiv. Výrobce - Biomar A/S bv (Brande, Dánsko)  
Hodnoty uvedené v tabulce jsou deklarované výrobcem.

Obchodní název směsi	Inicio 917	Inicio 702	Efico alpha 717
Velikost granulí (mm)	1,5	2	3
N - látky (%)	47	41	41
Tuk (%)	20	22	22
Vláknina (%)	1,2	4,4	4,5
Popeloviny (%)	7,3	6,4	5,6
Energie rubá MJ	22	22,5	22,2
Energie stravitelná MJ	19,6	18,4	18,4
Vitamin A (IU.kg <sup>-1</sup> )	7600	4800	4800
Fosfor %	1,06	0,9	0,8
Vápník %	1	0,74	0,71

### 3.2.5. Stanovení fyzikálně chemických parametrů vody v RAS

Denně byla v jednotlivých odchovných nádržích dvakrát (v 7:00 a 15:00 hodin) měřena koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě a teplota vody celého odchovu s cílem udržet tyto hodnoty v optimálních a požadovaných hodnotách (100 % nasycení kyslíkem a teplota vody kolem 21 – 23°C). Se stejnou frekvencí byl také v každé nádrži měřen oxidačně redukční potenciál vody (ORP) s cílem zjistit vliv ozonizace vody na výskyt oxidačních či redukčních látek ve vodě charakterizující vyšší či nižší hodnoty ORP. Ostatní parametry vody jako je: pH, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> byly měřeny jedenkrát denně ve smíšeném vzorku z každé experimentální skupiny ryb s cílem také udržet kvalitu vody ve všech nádržích na optimálních hodnotách (pH 6,5 – 7; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> < 0,5 mg.l<sup>-1</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> < 0,5 mg.l<sup>-1</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> < 50 mg.l<sup>-1</sup>). Jestliže bylo zjištěno snižující se pH v daném RAS, byla na úpravu pH použita jedlá soda. Jestliže se v rámci RAS zvyšovaly hodnoty NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, došlo v rámci systémů k výměně vody na úrovni 5 – 10 %.

### 3.2.6. Světelný režim v průběhu experimentu

Světelné podmínky byly na počátku pokusu pro všechny skupiny a nádrže stejné. Byl zvolen světelný režim 12 h světlo (od 7:00 do 19:00) a 12 h tma s intenzitou světla 75 luxů, které dopadalo na hladinu nádrží. Po třech týdnech experimentálního odchovu, byly nádrže z 50 % zakryty, kvůli snížení stresu ryb, poněvadž jim počáteční světelné podmínky v hale příliš nevyhovovaly. Experimentální ryby candáta obecného se při rozsvícení či zhasínání plašily, a při jakémkoli pohybu obsluhy v blízkosti nádrží ryby také narážely do stěn. U sumce velkého, se ukázalo jako vhodné „nabídnout“ mu úkryt v podobě zastínění nádrží. Ryby sumce velkého se stejně tak jako candáti uklidnily, a chovaly se více přirozeně. Již několik málo dní po zahájení experimentu bylo vidět pouhým pohledem do odchovných nádrží v systému s ozonizací, že je průhlednost vody vyšší.

### 3.2.7. Čištění a údržba RAS

Chovatelské úkony týkající se čištění a odkalování odchovných nádrží, odstraňování a evidence uhynulých ryb byly realizovány v pravidelných intervalech nebo dle potřeby. To znamená, že každá nádrž byla minimálně jednou týdně ručním kartáčem čištěna od nánosu bakteriálního nárostu a v každém intervalu při stanovení biometrických parametrů ryb, kdy byly ryby přelovovány byla každá odchovná nádrž velice precizně čištěna ručním kartáčem.

### 3.2.8. Běžně sledované parametry v průběhu odchovu ryb

#### 3.2.8.1. Sledování růstu (SGR), kondice (FK), konverze krmiva (FCR) a přežití odchovávaných ryb (P)

Na začátku experimentu a na konci každého kontrolního období byly pravidelně monitorovány biometrické ukazatele ryb. Vždy bylo vzorkováno 50 kusů odchovávaných ryb z každé použité nádrže a stanoveny (celková délka těla TL, standardní délka těla SL, hmotnost W) a dále také počet přežívajících ryb. Veškerá biometrická měření a vážení živých ryb probíhala po anestezii v lázni hřebíčkového oleje. Při kontrolním přelovení ryb v daný den, nebylo aplikováno žádné krmivo. V průběhu experimentu byly ze zjištěných biometrických údajů, spotřeby krmiva a počtu přežívajících ryb stanoveny a hodnoceny následující produkční ukazatele:

**Specifická rychlost růstu (SGR v  $\% \cdot d^{-1}$ )** =  $\ln(W_k) - \ln(W_p) / t * 100$  - kde t je počet dní v daném období,  $W_p$  je průměrná hmotnost nasazovaných ryb a  $W_k$  je konečná průměrná hmotnost slovených ryb na konci období.

**Fultonův koeficient (FK)** =  $(W / TL) * 100$  – kde W je průměrná kusová hmotnost a TL je celková délka těla odchovávaných ryb.

**Koeficient konverze krmiva (FCR v  $g \cdot g^{-1}$ )** =  $CKD / (KB - PB)$  - kde CKD je celková využitá krmná dávka za jednotlivé období (g), tzn. množství předloženého a zkrmeného krmiva, KB je konečná celková biomasa ryb v nádrži (g) a PB je počáteční biomasa ryb v nádrži v gramech (Stejskal a kol., 2009).

**Přežití ryb (P v %)** =  $(PPR/PNR) \times 100$  - kde PPR je počet přeživších ryb (ks) a PNR je počet nasazených ryb (ks).



obr.č.9 – Sumec velký a candát obecný při stanovení biometrických ukazatelů

### **3.2.8.2. Sledování chemických parametrů vody**

Detailní chemismus vody v průběhu experimentu byl hodnocen ve 14ti denním intervalu bez ohledu na zrovna probíhající kontrolní období. Vzorky vody byly odebrány do 1,5 litrových lahví, vždy v 7:00 před krměním ryb. Vzorky vody byly odebrány jak z odchovných nádrží, tak i z biologických filtrů obou RAS. Za pomoci absorpční spektrofotometrie byly hodnoceny amonné ionty, dusičnany, dusitany a fosforečnany. Celkový fosfor byl stanoven metodou oxidačního rozkladu peroxodisíranem amonným v prostředí kyseliny sírové na rozpuštěné anorganické fosforečnany a jejich stanovení absorpční spektrofotometrií. Celkový dusík byl stanoven fotometrickým kyvetovým testem. Chemická spotřeba kyslíku (CHSKMn) se stanovila manganistanem draselným podle Kubela – přímý ohřev topnou deskou. Biologická spotřeba kyslíku (BSK5) se stanovila manometricky na přístroji OxiTop podle normy DIN 38409. Ještě byly hodnoceny nerozpuštěné látky (NL 105). Veškeré tyto popsané metody stanovení byly uskutečněny podle Horákové a kol. (1986). Vedle zmíněných parametrů kvality vody byla také měřena v průběhu experimentu optická hustota nerozpuštěných látek v každé z nádrží, a to u obou testovaných skupin a druhů ryb v intervalu 1x za 21 dní, tudíž vždy na konci daného dílčího období experimentu.

### **3.2.9. Sledování a hodnocení celkové kondice a zdravotního stavu ryb**

Vyšetření zdravotního stavu obou skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) bylo realizováno v průběhu experimentu 10 krát, a to na začátku a na konci experimentu či v průběhu experimentu v 28 denních intervalech. Hodnocení vždy probíhalo u tří ryb každého druhu a skupiny. Zdravotní stav a welfare ryb se hodnotily v následujících osmi krocích

1. Biometrické měření a patologicko-makroskopické vyšetření
2. Mikroskopické parazitologické vyšetření ryb
3. Bakteriologické vyšetřování
4. Histologické vyšetření žaber
5. Stanovení úrovně oxidativního stresu
6. Posouzení stavu a poškození ploutví

7. Posouzení zdravotního stavu podle vnitřních orgánů

8. Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb, vody a biologických filtrů

### **3.2.9.1. Biometrické měření a patologicko-makroskopické vyšetření**

Před každým vyšetřením zdravotního stavu, byla ryba rychle a pokud možno bezbolestně usmrcena. Následně po usmrcení byla ryba změřena a zvážena. Dále bylo provedeno makroskopické vyšetření ryb zaměřené na patologické změny a výskyt makroskopicky diagnostikovatelných parazitů. V průběhu jednotlivých vyšetřování zdravotního stavu a welfare odchovávaných ryb obou druhů a skupin v průběhu 231 denního odchovu bylo z makroskopických patologických nálezů nejčastěji diagnostikováno poškození jater, ve smyslu tukové degenerace jaterní tkáně. Stupeň poškození byl hodnocen číselnou stupnicí 1-4 dle zbarvení jaterní tkáně: 1= fyziologické růžové; 2= světlé růžové; 3= žluté; 4=bílé a následně bylo stanoveno procentuální zastoupení jednotlivých stupňů poškození ploutví u jednotlivých druhů ryb a testovaných skupin.

### **3.2.9.2. Parazitologické vyšetřování**

Parazitologické vyšetření bylo prováděno mikroskopickým pozorováním stěru z celé levé poloviny těla ryby, včetně ploutví, a ze všech žaberních oblouků z levé skřelové dutiny. Při zvětšení mikroskopu 40 - 400x bylo provedeno vyšetření celého preparátu na podložním sklíčku. Jestliže byla identifikovaná jakákoliv parazitární infekce, došlo k druhovému určení parazita, následně ke stanovení intenzity nákazy (ojedinělá, slabá, střední a masová infekce) a prevalenci, která charakterizovala kolik procent ryb je parazitárním onemocněním postiženo. V případě parazitárních infekcí v kterémkoli z odchovných systémů (ozón + či ozón -) bylo nutné použít v odchovných systémech dlouhodobé antiparazitární koupele (ve formaldehydu nebo kuchyňské soli NaCl, která byla aplikována do celého RAS s cílem zabránit masovému namnožení parazitů v daném chovu a následným masovým úhynům odchovávaných ryb a tím ukončení daného experimentu. Koupel v roztoku kuchyňské soli byla také v průběhu experimentu několikrát použita u obou testovaných skupin obou druhů ryb jako prevence před zaplísněním ryb po jejich manipulaci a biometrickém měření.



### **3.2.9.3 Mikroskopické bakteriologické vyšetřování**

Suspektní bakteriologické vyšetřování bylo prováděno mikroskopickým pozorováním stěru z celé levé poloviny těla ryby, včetně ploutví, a ze všech levostranných žaberních oblouků. Při zvětšení mikroskopu 400x bylo provedeno vyšetření celého preparátu a zaznamenána prevalence (%) a intenzita výskytu (ojedinělá – slabá – středně silná, silná) blíže neidentifikovaných bakterií. Při vyšší prevalenci středně silného výskytu bakterií byla v chovech určitého napadeného druhu a skupiny použita preventivní antibakteriální koupel ryb v podobě přípravku Chloramin T bez průtoku vody v dané nádrži po dobu 20 minut.

### **3.2.9.4. Histologické vyšetření žaber**

Histologické vyšetření žaber bylo na začátku (28 dní po zahájení experimentu) a na konci 231 denního odchovu provedeno podle Bancrofta a Gambleho (2002) a Takashimy a Hibiyava (1995). Vzorky žaber byly odebrány ihned po usmrcení ryby. Celé pravostranné žaberní oblouky byly vcelku vloženy do 10 %ního pufrovaného formalinu, po 2 dnech byly převedeny do 70% ethanolu a za další 1-2 dny byly vyjmuty a zality do parafínu. Histologické preparáty pak byly barveny hematoxylin-eosinem. Následně změny u testovaných ryb (candát ozón + a sumec ozón +) byly porovnány s kontrolní skupinou (candát ozón - a sumec ozón -).

### **3.2.9.5. Stanovení úrovně oxidativního stresu.**

Úroveň oxidativního stresu u experimentálních ryb obou skupin a druhů byl stanoven na začátku experimentu hned 1. den, následně 35 dní po zahájení testu a pak poslední den při ukončování experimentu. Snahou bylo zhodnotit vliv ozonizace či nepoužití ozonizace vody v RAS na výskyt biomarkerů oxidativního stresu či antioxidantních biomarkerů v jaterní a žaberní tkáni odchovávaných ryb. Pro tuto část projektu bylo použito 10 ryb od každého druhu a každé skupiny (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón +, sumec ozón-). Po usmrcení ryby byla odebrána jaterní a žaberní tkáň, vzorky byly zmrazeny a uchovány při -80°C až do doby provedení analýz.

Před samotnou analýzou byly vzorky zváženy a homogenizovány (1:10 w/v) pomocí homogenizátoru za použití 50 mM fosfátového pufru (pH 7, obsahující 0,5 mM EDTA). Homogenát byl rozdělen na dvě části, první část byla použita pro stanovení biomarkeru oxidativního stresu bez centrifugace TBARS testu (látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou) a druhá pro stanovení antioxidantních biomarkerů, kdy byl

homogenát pro všechny tyto biomarkery před stanovením centrifugován (CAT- aktivita katalázy a SOD - celková aktivita superoxidativní dismutázy: centrifugace 30 min při 30 000 rpm a 4 °C, ostatní antioxiparametry: 15 min při 10 000 rpm a 4 °C). Oxidativní poškození bylo vyhodnoceno pomocí lipidní peroxidace, která byla stanovena pomocí TBARS testu (látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou) podle metody Lushchak a kol. (2005). Celková aktivita superoxidní dismutázy (SOD; ES 1.15.1.1) byla stanovena spektrofotometricky při 420 nm (Marklund & Marklund, 1974). Aktivita katalázy (CAT, 1.11.1.6 ES) byla měřena spektrofotometricky při 240 nm podle metody Beers a Sizer (1952). Aktivita glutathion reduktázy (GR, ES 1.6.4.2) byla stanovena spektrofotometricky, měřením NADPH při 340 nm (Carlberg a Mannervik, 1975). Množství redukovaného glutathionu (GSH) bylo zjištěno pomocí metody Ferrari a kol. (2007). Enzymatická aktivita glutathion - S - transferázy (GST) byla stanovena spektrofotometricky při 340 nm (Habig a kol., 1974). Po stanovení a zpracování hodnot zmíněných biomarkerů byly jednotlivé hodnoty statisticky porovnány v rámci daného použitého druhu a mezi experimentálními skupinami (skupina candát ozón + se skupinou candát ozón -, nebo skupina sumec ozón + se skupinou sumec ozón-).

### **3.2.9.6. Posouzení stavu a poškození ploutví**

V průběhu odchovu se začaly objevovat rozdíly v rozsahu a charakteru poškození ploutví, proto bylo rozhodnuto, že tato poškození budou na konci experimentu monitorována a srovnána. U obou experimentálních skupin (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) bylo posouzeno poškození u 150 ryb každého druhu, celkem tedy 600ks ryb. Byly hodnoceny všechny ploutve: pravá a levá prsní, pravá a levá břišní, malá a velká hřbetní u candáta, malá hřbetní u sumce, řitní a ocasní. Stav ploutví byl hodnocen následovně: 0 – minimální poškození ploutví, (< 5% poškození ploutve), 1 – malé poškození ploutve (>5% poškození < 30%), 2 - střední poškození ploutve (>30% poškození < 70%) a 3 – úplné poškození ploutve (poškození > 70%). Následně u obou experimentálních skupin a druhů ryb byla stanovena frekvence výskytu jednotlivých stupňů poškození ploutví v procentuálním vyjádření. Výskyt poškození ploutví byl následně statisticky vyhodnocen.



obr.č.10 – Stanovení míry poškození ploutví u experimentálních ryb candáta obecného

### 3.2.9.7. Posouzení zdravotního stavu podle vnitřních orgánů

Na konci experimentu byl u usmrcených experimentálních ryb obou skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón + a sumec ozón -) stanoven procentní hmotnostní podíl sleziny (SSI = Spleen Somatic Index), jater (HSI = Hepato Somatic Index) a tělního tuku (VSI = Viscero Somatic Index). Cílem stanovení těchto parametrů bylo zhodnotit kondiční a fyziologický stav odchovávaných druhů ryb v závislosti na použití či nepoužití ozonizace vody.

Prakticky tato část probíhala tak, že u každé usmrcené ryby (celkem bylo usmrceno 30 ryb od každého druhu a skupiny) došlo nejprve ke zjištění její hmotnosti a následně k vypreparování a zvážení jednotlivých orgánů, u kterých se indexy hodnotily (tzn. slezina, játra a tělní tuk). Jednotlivé hodnocené parametry byly vypočítány následovně podle vzorců:

$$SSI = (\text{hmotnost sleziny} / \text{hmotnost těla}) \times 100$$

$$HSI = (\text{hmotnost jater} / \text{hmotnost těla}) \times 100$$

$$VSI = (\text{hmotnost tělního tuku v dutině břišní} / \text{hmotnost těla}) \times 100.$$

Následně byly zjištěné parametry každé skupiny a druhu statisticky vyhodnoceny aby mohlo být zjištěno, zda má ozonizace vody vliv na stav vnitřních orgánů ryb.

### **3.2.9.8. Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb, vody a biologických filtrů**

Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků ryb a vody z odchovných nádrží, probíhalo VFU Brno. Vzorky byly v den odebrání a transportu následně zpracovány a kultivovány na sestavu 3 kultivačních médií: Anacker a Ordal agar, Mueller-Hinton agar a Columbia agar s 5 % ovčí krve. Vzorky vody byly homogenizovány a desetinasobně ředěny (1:10, 1:100 a 1:1000), z každého ředění bylo kultivováno roztěrem 100 µl vzorku na povrch agarů. Z jednotlivých vzorků ryb byla, pokud možno asepticky, získána tkáň žaber, která byla vážena, homogenizována a následně kultivována při základním ředění. Z kůže každé ryby byl získán stěr sterilním tamponem, který byl kultivován roztěrem na povrchu agarů. Všechna média byla inkubována při teplotě  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  po dobu 5 dnů. Poté byla stanovena přepočtem koncentrace heterotrofních kultivovatelných bakterií na  $\text{gram}\cdot\text{ml}^{-1}$  vzorku. Početně nejvíce zastoupené typy kolonií byly dále subkultivovány a identifikovány hmotnostní spektrometrií MALDI TOF (Bruker). Výsledkem této části pokusu bylo stanovení průměrného celkového počtu kultivovatelných bakterií v 1 gramu tkáně žaber dvou odchovávaných skupin a druhů ryb (candát ozón +, candát ozón -, sumec ozón +, sumec ozón-) a 1 ml vody a dále také četnost koliformních bakterií v 1 ml vody u odchovných nádrží zmíněných obou odchovávaných skupin a druhů ryb. Tyto parametry byly stanoveny v průběhu experimentu pětkrát a to v datech 3.10. 2016, 21.11. 2016, 9.1. 2017, 20.2. 2017, 3.4. 2017 s cílem posoudit vliv použití ozonizace vody v RAS na průběh bakteriální kontaminace vody v odchovných nádržích a na žábrách chovaných ryb.

### **3.2.10. Senzorické hodnocení svaloviny**

Na konci experimentálního odchovu candáta obecného a sumce velkého s ozonizací a bez ozonizace vody byla posouzena kvalita finálního produktu, a to svaloviny v podobě filet obou druhů ryb pomocí degustační zkoušky. Aby bylo možné objektivně hodnotit kvalitu svaloviny ryb (ozon+ a ozon-), byly tyto ryby srovnávány nejen mezi sebou, ale také se shodnými druhy ryb shodných věkových kategorií, avšak původem z rybníčního chovu.

Z každé kontrolní skupiny bylo pro potřeby degustační zkoušky využito vždy 30 kusů ryb od každého druhu. Jednalo se tedy o 6 skupin (candát ozon+, candát ozon-, sumec ozon+, sumec ozon-, candát rybník, sumec rybník) o celkovém počtu 180ks ryb. Degustační zkouška kvality svaloviny zmíněných skupin obou druhů ryb, byla realizována díky počtu 10 nezávislých hodnotitelů. Směsné vzorky pro sensorickou analýzu byly odebrány stejným dílem z kraniální i kaudální části filetů s kůží tak, aby každý hodnotitel měl ve vzorkovnici zastoupeny obě partie s přibližně stejným podílem. Interval mezi zpracováním ryb a sensorickým hodnocením byl maximálně 3 hodiny a vzorky byly po celou dobu uchovány ve zchlazeném stavu. Vzorkovnice se vzorky byly označeny třímístným kódem, každá obsahovala poměrnou část z trupu přední a střední části bez ocasního násadce. Tepelná úprava vzorků trvala 20 minut při teplotě 250 °C. Použita byla nestrukturovaná hédonická stupnice. Sensorické hodnocení bylo prováděno ve třech opakováních v rozmezí 30 min. Byly sledovány čtyři jakostní znaky: vůně, chuť, pachut' a konzistence. Ke každému znaku byla předtištěna nestrukturovaná úsečka. Při získání výsledků se vycházelo z toho, že vzdálenost od začátku (žádoucí, kladná vlastnost) k označenému místu bude hodnocena ekvivalentem vyjadřujícím číselnou hodnotu intenzity vjemu v milimetrech. Čím je tato vzdálenost větší, tím bude hodnocení méně příznivé.



obr.č.11 – Degustační zkouška při stanovení organoleptických vlastností masa ryb

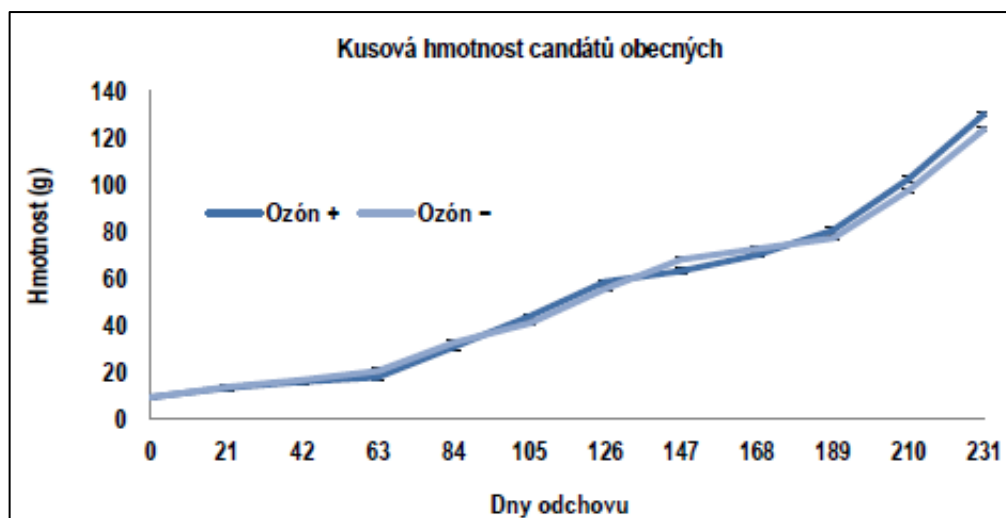
### 3.2.11. Zpracování a vyhodnocení výsledků

Shromážděná data byla vyhodnocena pomocí programu Statistica 12 (StatSoft Inc., USA). Data byla ve většině případů podrobena testu ANOVA. V případě dat, která neměla normální rozdělení, byl použit Kruskal-Wallisův test. Oba výše zmíněné testy byly realizovány na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## 4. Výsledky

### 4.1. Průběh průměrné kusové hmotnosti ve skupinách candát ozon + a candát ozon –

Na grafu č. 1 jde vidět, že nebylo dosaženo průkazných rozdílů v rychlosti růstu odchovávaných ryb candáta obecného. Ozonizace tudíž nemá průkazně pozitivní ani průkazně negativní vliv na kusovou hmotnost odchovávaných candátů. Po 231 denním odchovu bylo u candátů s ozonizací dosaženo kusové hmotnosti  $W = 130,0 \pm 26,2$  gramů a u candátů odchovávaných bez ozonizace vody bylo dosaženo hmotnosti  $W = 123,5 \pm 21,3$  gramů.

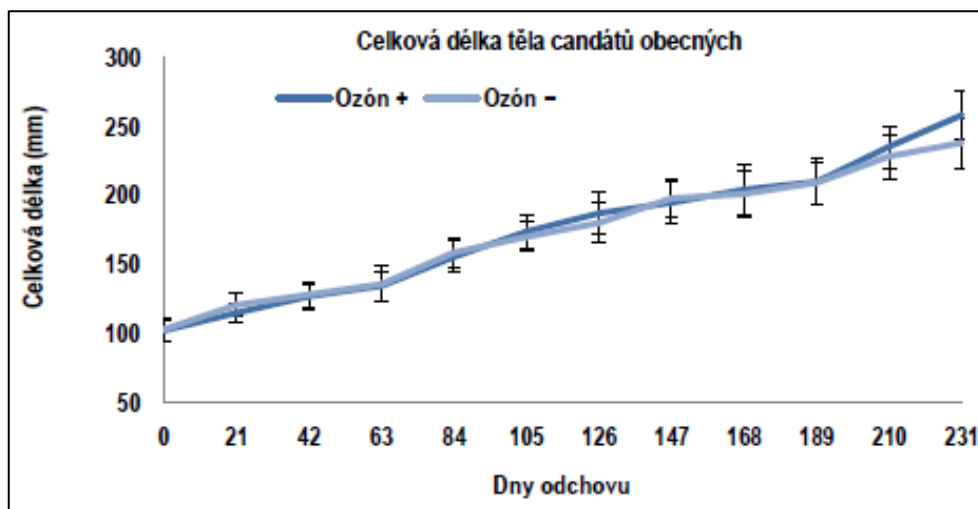


Graf č.1 - Porovnání konečné kusové hmotnosti u skupin candát ozon + a candát ozon -

### 4.2. Průběh průměrné celkové délky těla ve skupinách candát ozon + a candát ozon –

Na grafu č. 2 jde podobně jako u grafu č. 1 (hmotnosti odchovávaných ryb) vidět, že nebylo dosaženo statisticky významných rozdílů v celkové délce těla odchovávaných ryb candáta obecného. Ozonizace vody tedy neovlivňuje pozitivně ani negativně celkovou délku těla odchovávaných ryb. U ryb s ozonizovanou vodou bylo dosaženo

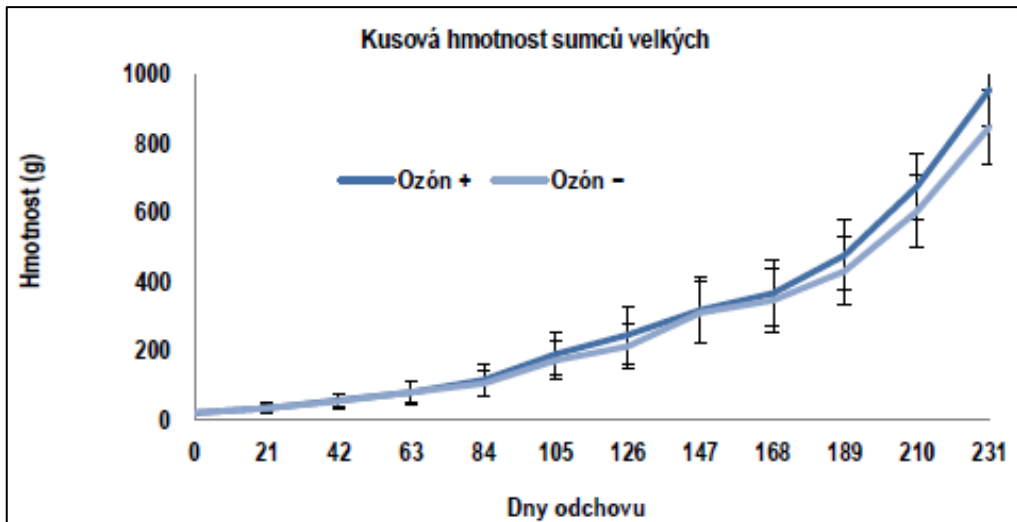
celkové délky těla TL =  $258,0 \pm 16,3$  mm a u candátů obecných chovaných bez ozonizované vody TL =  $238,0 \pm 15$  mm.



graf č.2 - Porovnání celkové délky těla u skupin candátů ozon + a candátů ozon -

#### 4.3. Průběh průměrné kusové hmotnosti ve skupinách sumec ozon + a sumec ozon -

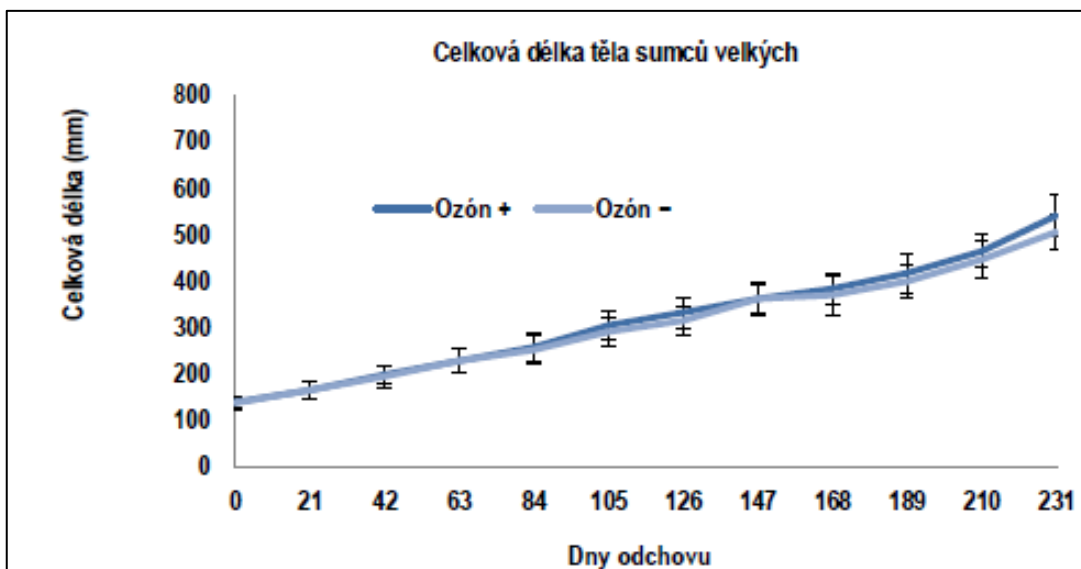
Na grafu č. 3 je možné vidět, že se od sebe skupiny sumce velkého chovaného v ozonem ošetřené vodě a v neošetřené vodě statisticky neliší. Ačkoliv zhruba od poloviny odchovu vykazovaly ryby sumce velkého ve vodě ošetřené ozonem nepatrně vyšší kusovou hmotnost, nejednalo se o statisticky průkazné rozdíly. Sumci v RAS s ozonizací vody dosáhli průměrné kusové hmotnosti  $W = 956,0 \pm 169,3$  gramů. Vedle toho ryby sumce velkého chované v RAS bez ozonizace vody na konci odchovu dosáhly průměrné kusové hmotnosti  $W = 847,5 \pm 132,9$  gramů. Je tedy možné říci, že ozonizace vody nemá žádný vliv na rychlost růstu sumce velkého v podmínkách RAS.



Graf č.3 - Porovnání kusové hmotnosti ryb u skupin sumec ozon + a sumec ozon -

#### 4.4. Průběh průměrné celkové délky těla ve skupinách sumec ozon + a sumec ozon -

Graf č. 4 opět jasně znázorňuje, že podobně jako u kusové hmotnosti nebyly významné statistické rozdíly zaznamenány u skupin sumce velkého s ozonizací nebo bez ozonizace při srovnání celkové délky těla ryb. Ozonizace vody tedy nemá negativní ani pozitivní vliv na celkovou délku těla sumce velkého. Na konci experimentu se celková délka odchovaných sumců velkých z RAS s ozonizací vody pohybovala na úrovni  $TL = 540,0 \pm 42,4$  mm a u ryb z RAS bez ozonizace vody na hodnotě  $TL = 505,0 \pm 35,2$  mm.



graf č.4 - Porovnání celkové délky těla ryb u skupin sumec ozon + a sumec ozon -

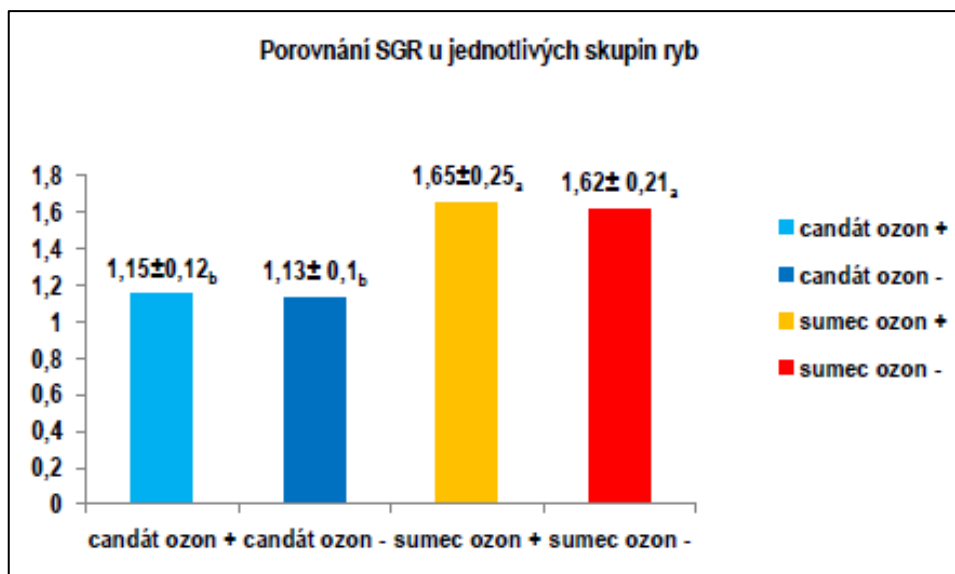


#### **4.5. Porovnání SGR, FK, FCR a P u odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého na konci 231 denního odchovu**

##### **Specifická rychlost růstu (SGR)**

Obecně lze říci, že byla u odchovávaného candáta obecného po celém experimentálním odchovu v obou skupinách zjištěna velmi nízká rychlost růstu na úrovni 1,13 – 1,15 %·d<sup>-1</sup> bez statistického rozdílu mezi skupinami viz. graf č. 5. Nízká SGR byla pravděpodobně způsobena nízkou hustotou odchovávaných ryb, kdy na začátku experimentu byly ryby do nádrží nasazeny v jednotné počáteční hustotě 0,3 ks ryby na 1 litr. Ryby se v průběhu experimentu v nádržích velmi plašily a narážely do stěn odchovných nádrží, především v průběhu obsluhy nádrží a celého RAS. Dalším negativním vlivem u skupiny candátů obecných ošetřených ozónem byla vysoká průhlednost vody v nádržích, která byla způsobena minimálním zákalem vody. Ačkoliv vysoká průhlednost vody bývá prostým indikátorem vysoké kvality prostředí, může mít i negativní dopad v podobě neustálého plašení ryb. Důležité je zmínit, že rozdíl v růstu mezi skupinou candát ozón + a candát ozón – nebyl prokázán, i když v nádržích v RAS bez ozonizace vody byl vyšší zákal vody a ryby se chovaly více přirozeně. Ryby candáta obecného na konci odchovu ve věku 1+ dosáhly obecně velmi malých rozměrů a hmotnosti, která neodpovídá tržní velikosti takto odchovávaných ryb v RAS v daném věku tohoto druhu ryb.

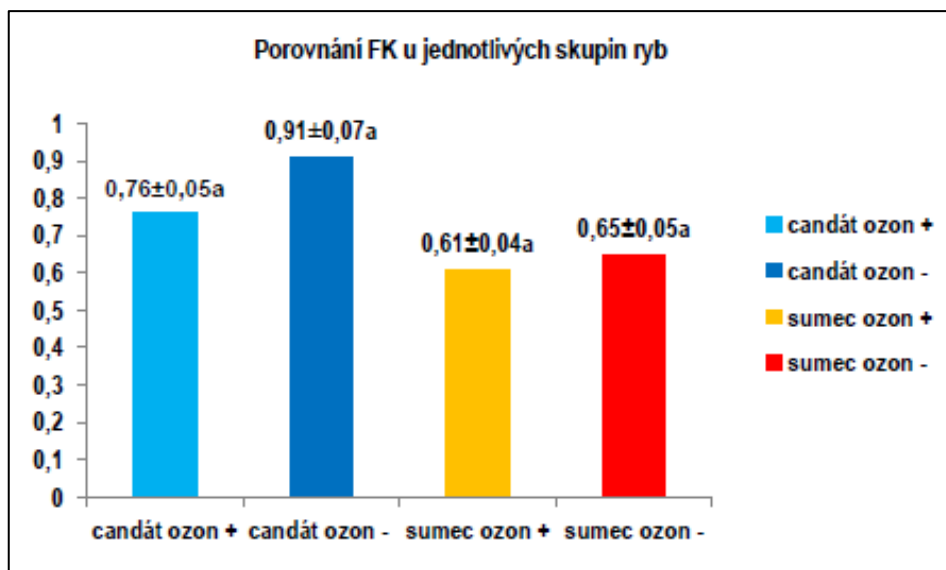
U odchovávaných ryb sumce velkého byly zjištěny vyšší hodnoty SGR než u candáta obecného za celý 231 denní odchov konkrétně (1,62 – 1,65 %·d<sup>-1</sup>). Avšak byla zjištěna velmi podobná rychlost růstu v obou skupinách odchovávaných ryb bez ohledu na využití ozonizace vody v RAS. Ryby dosáhly na konci odchovu hmotnosti kolem 1 kilogramu, což lze považovat za minimální velikost tržních ryb.



graf č.5 – SGR zjištěná na konci odchovu, hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ( $p \leq 0,05$ ) při porovnání parametru v rámci stejného druhu.

### **Fultonův koeficient (FK)**

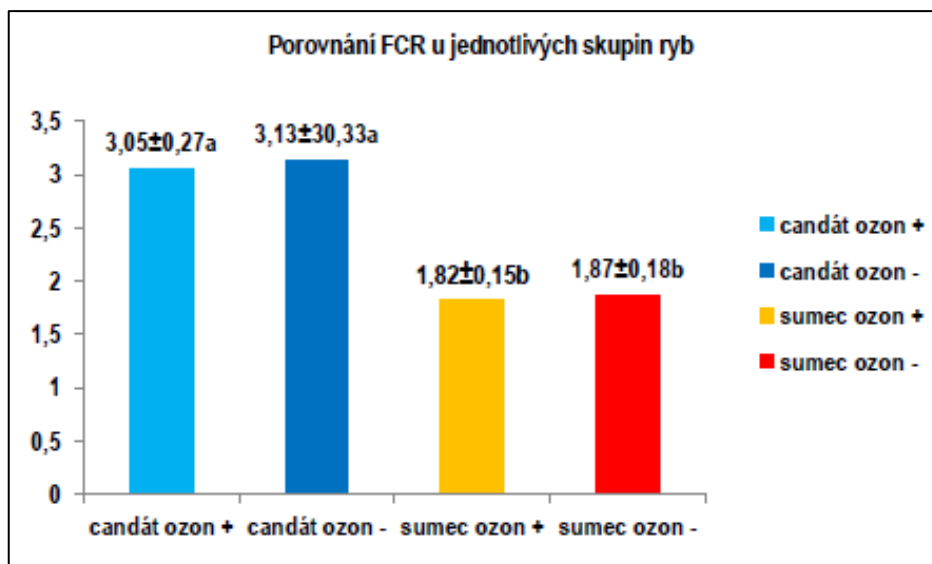
Průměrná hodnota Fultonova koeficientu se u odchovávaného candáta obecného pohybovala na konci odchovu na úrovni  $FK = 0,76 - 0,91$  a vyjadřovala dobrý kondiční stav ryb, který byl i patrný z běžného chovatelského pohledu na ryby. U odchovávaných ryb sumce velkého byl zjištěn nižší Fultonův koeficient  $FK = 0,61 - 0,65$  oproti candátovi obecnému, avšak kondiční stav ryb tohoto druhu byl velmi dobrý. Rozdílné hodnoty FK má na svědomí především srovnání dvou naprosto rozdílných rybích druhů, které se liší především stavbou těla. Fultonův koeficient (FK) v rámci daného druhu nebyl prokazatelně statisticky odlišný u jednotlivých experimentálních skupin ryb. Z těchto výsledků vyplývá, že nebyl prokázán pozitivní ani negativní vliv ozonizace vody v RAS na kondiční stav odchovávaných ryb obou druhů. Výsledky jsou sumarizované v grafu č. 6.



graf č.6 - FK zjištěný na konci odchovu, hodnoty označené odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ( $p \leq 0,05$ ) při porovnání parametru v rámci stejného druhu.

### Koeficient konverze krmiva FCR

Obecně u odchovávaných candátů obecných byl zjištěn velmi vysoký koeficient konverze krmiva  $FCR = 3,05 - 3,13 \text{ g.g}^{-1}$  oproti FCR dosaženého u odchovávaných sumců velkých ( $1,82 - 1,87 \text{ g.g}^{-1}$ ). Tato skutečnost byla způsobena následujícími faktory: současná komerční krmiva nejsou fyziologicky plně vhodná pro výživu candáta obecného, byl sledován vyšší stres a plašení u odchovávaných candátů v odchovných nádržích oproti odchovávanému sumci, který nebyl v chovu výrazně rušen a současně není tak náročný na výživu jako candát při dostatečném množství komerčních krmiv vhodných pro výživu a odchov sumce. Hodnoty FCR u obou druhů ryb mezi experimentálními skupinami (ozón + a ozón -) se od sebe statisticky nelišily. Zjištěné výsledky jsou graficky srovnané v grafu č. 7.



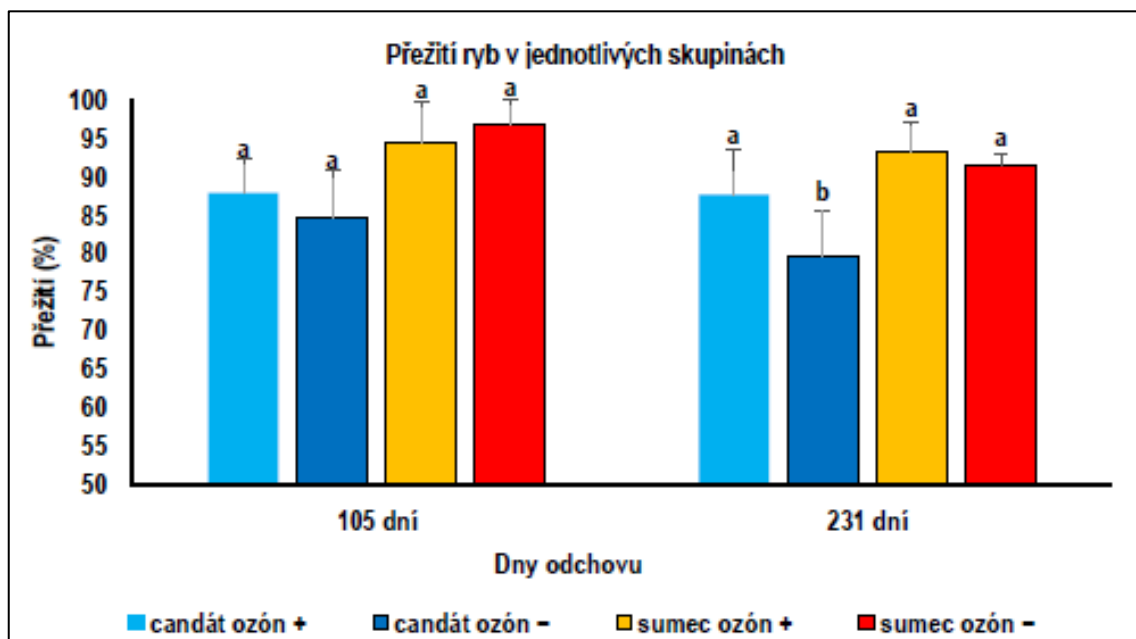
graf č.7 – FCR zjištěný na konci odchovu Souhrnné výsledky FCR na konci odchovu candáta a sumce v ozonizované a v neozonizované vodě.

### **Kumulativní přežití odchovávaných ryb v RAS s a bez ozonizace vody po 105 dnech a na konci 231 denního experimentálního odchovu**

Po první části experimentu, kdy byla v průběhu 105 dní porovnávána kontinuální ozonizace vody v RAS se skupinou bez ozonizace vody, bylo zjištěno kumulativní přežití candáta obecného v obou skupinách na podobné úrovni dosahující 87,9 % ve skupině candát ozón + a 84,6% u skupiny candát ozon - . Obecně tyto hodnoty nebyly mezi skupinami statisticky rozdílné. Po druhé části, kdy byla testována periodická ozonizace vody v RAS využívající vyšší dávky ozónu po kratší dobu, byly u candáta obecného zjištěny statistické rozdíly v přežití mezi experimentálními skupinami. Skupina candáta obecného s ozonizací vody v RAS dosáhla vyššího přežití (87,6 %) oproti skupině candáta obecného bez ozonizace vody v RAS (79,5 %). Podobné statistické rozdíly byly zjištěny u celkového kumulativního přežití ryb candáta obecného za celé období odchovu, kdy skupina s ozonizací vody dosáhla vyššího kumulativního přežití na úrovni 77,0 % oproti skupině bez ozonizace vody s nižším kumulativním přežitím na úrovni 67,2 %. Z těchto výsledků vyplývá, že přežití odchovávaného candáta obecného bylo pozitivně ovlivněno především periodickým používáním ozónu v RAS.

U odchovu sumce velkého nebyly prokázány žádné statistické rozdíly v přežívání ryb v žádném období odchovu a ani v rámci celého odchovného období. Ryby sumce

velkého po prvním období dosáhly ve skupině s ozonizací vody kumulativního přežití za 105 dní na úrovni 94,5 % a skupina ryb bez ozonizace vody dokonce 96,8 %. Po druhém období zahrnující periodickou ozonizací vody v RAS dosáhly ryby sumce velkého přežití na úrovni 93,1 % a ryby bez ozonizace 91,5 %. Celkové kumulativní přežití sumce velkého za 231 denní odchov bylo u ryb s ozonizací vody v RAS na úrovni 93,1 % a bez ozonizace vody na úrovni 91,5 % bez jakéhokoliv statistického rozdílu. Výsledky jsou porovnány v grafu č. 8.



graf č.8 – Srovnání kumulativního přežití ryb mezi jednotlivými skupinami

#### 4.6. Srovnání zjištěných chemických parametrů vody v nádržích a biofiltrech

Jednotlivé základní parametry kvality vody se v průběhu odchovu ryb pohybovaly na následujících hodnotách: teplota vody =  $22,1 \pm 0,47^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{O}_2 = 108 \% \pm 15\%$ ,  $\text{pH} = 7,1 \pm 0,5$ ,  $\text{NH}_4^+ = 0,28 \pm 0,21 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $\text{NO}_2^- = 0,21 \pm 0,18 \text{ mg.l}^{-1}$ . Hodnoty zmíněných parametrů kvality vody byly ve všech odchovných nádržích velmi podobné a vhodné pro chov obou testovaných druhů. Zmíněné hodnoty nebyly v jednotlivých odchovných nádržích statisticky rozdílné. Průběh průměrné výsledné hodnoty detailního chemismu vody je zaznamenán v tab.č.5. Z výsledků je jasně vidět, že veškeré parametry týkající se koloběhu dusíku a fosforu v RAS nebyly ozonizací vody v RAS žádným způsobem ovlivněny. Kvalita vody v odchovných nádržích, které byly napojeny na RAS s ozonizací vody, vykazovala statisticky nižší hodnoty chemické a biologické spotřeby kyslíku oproti nádržím napojených na RAS bez ozonizace vody. Současně voda

v nádržích a biologických filtrech napojených na RAS s ozonizací vody obsahovala nižší množství nerozpuštěných látek.

	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- N (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>- N (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- N (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>N- celkov ý (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>P- celkov ý</b>	<b>CHSK<sub>Mn</sub> (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>BSK<sub>5</sub> (mg.l<sup>-1</sup>)<sup>1)</sup></b>	<b>Neroz- puštěn é látky</b>
<b>Nádrž ozón -</b>	<b>0,37 ±0,1 a</b>	<b>26,4 ±10,2 a</b>	<b>0,09 ±0,03 a</b>	<b>34,6 ±10,9 a</b>	<b>1,44 ±0,6 a</b>	<b>10,7 ±1,6 a</b>	<b>8,1 ±1,3 a</b>	<b>8,17 ±6,2 a</b>
<b>Nádrž ozón +</b>	<b>0,31 ±0,1 a</b>	<b>23,6 ±9 a</b>	<b>0,06 ±0,02 a</b>	<b>29,4 ±8,9 a</b>	<b>1,22 ±0,6 a</b>	<b>6,4 ±1,2 b</b>	<b>5,32 ±1,8 b</b>	<b>4,3 ±2,8 b</b>
<b>Biol. filtr ozón -</b>	<b>0,35 ±0,1 a</b>	<b>27,1 ±10,3 a</b>	<b>0,09 ±0,03 a</b>	<b>35,1 ±10,6 a</b>	<b>1,58 ±0,2 a</b>	<b>10,6 ±2,9 a</b>	<b>8,6 ±1,7 a</b>	<b>8,4 ±6,2 a</b>
<b>Biol. filtr ozón +</b>	<b>0,31 ±0,1 a</b>	<b>22,7 ±8,9 a</b>	<b>0,07 ±0,15 a</b>	<b>30,0 ±8,9 a</b>	<b>1,26 ±0,7 a</b>	<b>7,2 ±2,1a</b>	<b>6,0 ±2,3 a</b>	<b>4,3 ±1,5 b</b>

tab.č.5 – Fyzikálně chemické parametry vody v průběhu experimentu

Skutečnost, že bylo v ozonizované / neozonizované vodě zjištěno statisticky rozdílné množství nerozpuštěných látek, byla potvrzena také závěry z měření optické hustoty nerozpuštěných látek obsažených ve vodě pocházející z nádrží s odchovávanými candáty obecnými a sumci velkými v závislosti na ozonizaci či neozonizaci vody v RAS. U nádrží s oběma druhy ryb bez ozonizace vody v RAS byla zjištěna statisticky vyšší optická hustota (absorbance) nerozpuštěných látek ve vodě v podobě  $\text{OHNL}_{720\text{nm}} = 0,0085 \pm 0,0018$  charakterizující vyšší zákal vody oproti nádržím s oběma druhy bez ozonizace vody ( $\text{OHNL}_{720\text{nm}} = 0,0041 \pm 0,0005$ ).

Na konci experimentu bylo také zjištěno, že voda ve všech nádržích, bez ohledu na rybí druh a ošetření vody ozónem v RAS, měla velmi podobný oxidačně redukční potenciál ( $\text{ORP} = 230,5 \pm 35,2$  mV). Díky tomu lze tvrdit, že aplikovaná ozonizace

vody v daných RAS neměla vliv na výskyt a množství oxidačních a redukčních látek ve vodě.

#### **4.7. Výsledky makroskopického vyšetřování v rámci sledování zdravotního stavu a welfare ryb**

V průběhu jednotlivých vyšetřování zdravotního stavu a welfare odchovávaných ryb obou druhů a skupin ryb bylo z makroskopických patologických nálezů diagnostikováno zjevné poškození jater. Jednalo se o tukovou degeneraci jaterní tkáně. Na začátku experimentu do 56. dne odchovu u candáta obecného a do 84. dne odchovu u sumce velkého byly identifikovány jen první dva stupně poškození jater u obou experimentálních skupin. Později při odchovu byly identifikovány zbylé dva stupně poškození jater (3. a 4. stupeň). U candáta obecného (s procentuální frekvencí 41,7 a 16,7 % u skupiny pocházející z RAS s ozonizovanou vodou a 65,0 a 0 % z RAS bez ozonizované vody), tak i sumce velkého (s procentuální frekvencí 20,0 a 0 % u skupiny pocházející z RAS s ozonizovanou vodou a 20,0 a 3,3 % z RAS bez ozonizované vody). Obecně se tendence výskytu poškození jater tukovou degenerací zvyšovala s časem a nevykazovala rozdíly mezi testovanými skupinami v rámci každého druhu. Obecně stupeň poškození jater byl nižší u odchovaného sumce velkého než u odchovávaného candáta obecného. Během vyšetřování byly také poměrně často u candáta obecného zaznamenány nálezy poškozených očí (exoftalmus, endoftalmus, úplný zákal či zcela chybějící oční bulbus). Chybějící oční bulbus byl pravděpodobně následkem vykousnutí jinou rybou během kritického období adaptace candátů na suché krmivo. Ostatní patologické změny na očích pravděpodobně souvisí s použitím ozonizace vody v RAS, vzhledem k jejich častějším nálezům ve skupině candátů chované v RAS s ozonizovanou vodou. Pro kvalitní orientaci ve výsledcích zjištěných pozorování jater byly tyto uspořádány do tabulky č. 6 pro candáta obecného a do tabulky č.7 pro sumce velkého.

Datum odběru ↓	Experimentální skupiny							
	candát obecný Ozon +				candát obecný Ozon -			
Stupeň poškození jater →	1	2	3	4	1	2	3	4
1. den odchovu	33,3	66,6	0	0	100	0	0	0
28. den odchovu	66,6	33,3	0	0	33,3	66,6	0	0
56. den odchovu	0	100	0	0	0	100	0	0
84. den odchovu	0	0	0	100	0	0	100	0
112. den odchovu	0	0	100	0	0	33,3	66,6	0
140. den odchovu	0	33,3	0	66,6	0	0	100	0
168. den odchovu	33,3	0	66,6	0	0	0	100	0
196. den odchovu	0	0	100	0	0	0	100	0
224. den odchovu	0	0	100	0	0	0	100	0
231. den odchovu	50	0	50	0	16,6	0	83,4	0
Průměr	18,3	23,3	41,7	16,7	15,0	20,0	65,0	0
Směrodatná odchylka	24,1	33,5	44,3	34,2	30,3	34,0	43,8	0

tab.č.6 – Zjištěné výsledky míry poškození jater u experimentálních ryb candáta obecného v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody



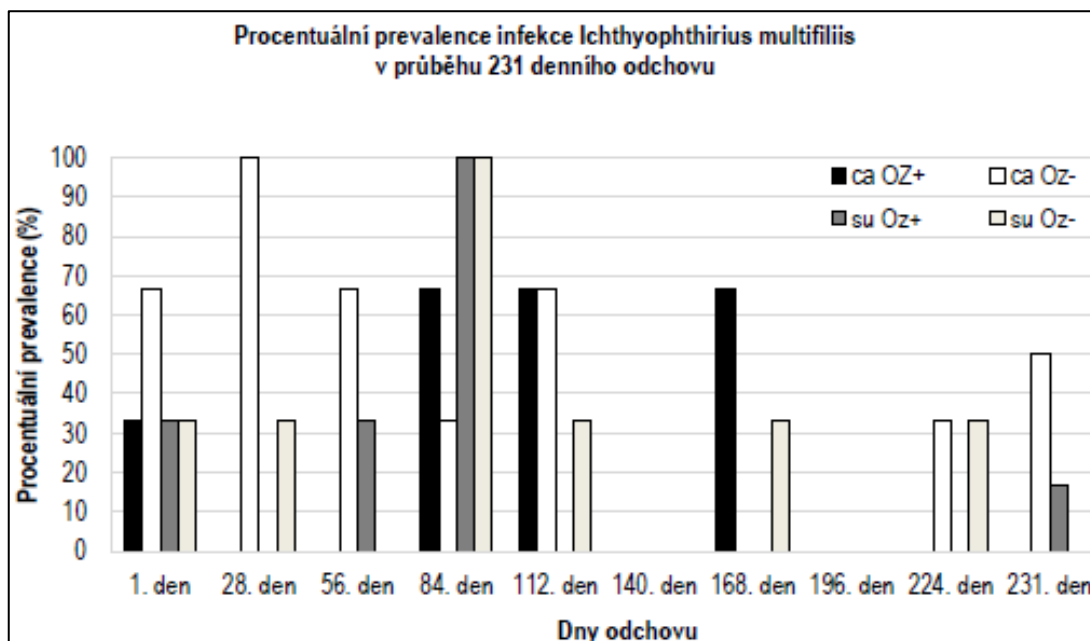
Datum odběru ↓	Experimentální skupiny							
	sumec velký Oz+				sumec velký Oz-			
Stupeň poškození jater →	1	2	3	4	1	2	3	4
1. den odchovu	33,3	66,6	0	0	33,3	66,6	0	0
28. den odchovu	66,6	33,3	0	0	100	0	0	0
56. den odchovu	0	100	0	0	0	100	0	0
84. den odchovu	100	0	0	0	33,3	66,6	0	0
112. den odchovu	66,6	33,3	0	0	66,6	33,3	0	0
140. den odchovu	0	100	0	0	100	0	0	0
168. den odchovu	0	100	0	0	33,3	33,3	0	33,3
196. den odchovu	0	0	100	0	0	0	100	0
224. den odchovu	0	0	100	0	0	0	100	0
231. den odchovu	33,3	66,6	0	0	50	50	0	0
Průměr	30,0	50,0	20,0	0	41,7	35,0	20,0	3,3
Směrodatná odchylka	34,8	40,1	40,0	0	36,0	33,7	40,0	10,0

tab.č.7 – Zjištěné výsledky míry poškození jater u experimentálních ryb sumce velkého v RAS s ozonizací a bez ozonizace vody

#### 4.8. Výsledky parazitologického vyšetření

V průběhu 231 denního intenzivního odchovu candátů obecných a sumců velkých v RAS byl opakovaně zaznamenán nález parazitického prvoka kožovce rybiho (*Ichthyophthirius multifiliis*) na kůži i žábrách ryb ve velmi nízkých intenzitách (ojediněle až slabě). Jednalo se o prevalenci nejčastěji u 33,3 – 66,6 % odchovávaných ryb viz. graf č. 9. Za celý odchov byla zjištěna průměrná nižší prevalence výskytu tohoto prvoka ( $23,3 \pm 30,0$  %) u skupiny candátů ozón+ oproti skupině candátů, kteří pocházeli z vody bez ošetření ozónem ( $41,6 \pm 34,5$  %). Průměrná prevalence výskytu kožovce u sumců velkých odchovávaných v RAS s ozonizací vody byla velmi nízká ( $18,3 \pm 31,9$  %) oproti sumcům odchovávaných v RAS bez ozonizace vody ( $26,7 \pm 30,1$  %). Vedle výskytu kožovce rybiho byl také jedenkrát (168. den odchovu) v obou systémech RAS

FROV JU (s ozonizací a bez ozonizace vody) zjištěn výskyt parazita *Trichodina* sp. ve středně silné až silné intenzitě s prevalencí u 33,3 % ryb ve skupině candát Oz- a u 100 % ryb ve skupinách candát Oz+ a sumec Oz+. U sumce pocházejícího z vody RAS neošetřovaného ozónem nebyla zjištěna žádná infekce tímto parazitem. zaplíněním po přelovení a manipulaci).

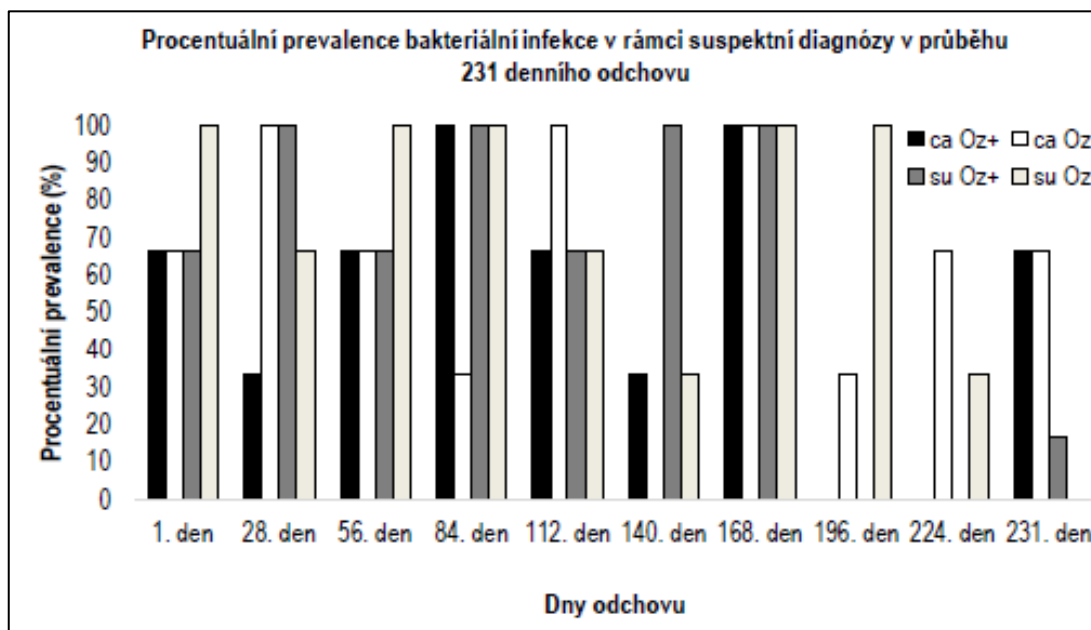


graf č.9 - Procentuální prevalence infekce *Ichthyophthirius multifiliis* u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých obou testovaných skupin v průběhu 231 denního odchovu

#### 4.9. Suspektní bakteriologické vyšetření

Průběh bakteriální infekce obou druhů ryb a skupin, která byla sledována suspektní diagnózou, je detailně znázorněn v grafu č. 10. Ve většině případů, kdy byla zjištěna bakteriální infekce ryb, se jednalo o slabé či středně silné napadení ryb. Za celý experiment byla nejnižší prevalence bakteriální infekce zjištěna u candáta pocházejícího z RAS s vodou ošetřenou ozónem ( $53,3 \pm 35,8$  %) a následovaného candátem chovaného v RAS s vodou neošetřenou ozónem ( $63,3 \pm 33,2$  %). Vyšší prevalence bakteriální infekce byla zjištěna u sumce velkého  $61,6 \pm 41,6$  % (u skupiny pocházející z RAS s vodou ošetřenou ozónem) a nejvyšší prevalence  $70,0 \pm 36,7$  % (u sumce velkého chovaného v RAS bez ozonizace vody). Velmi podobné výsledky byly získány z hlediska frekvence 100% prevalence bakteriální infekce u odchovávaných ryb obou druhů a skupin testovaných ryb, kdy nejvyšší frekvence 100% prevalence byla zjištěna u sumce velkého bez ozonizované vody (5 krát za celý odchov) a následně u sumce velkého chovaného v RAS s ozonizovanou vodou (4 krát). U candáta obecného byla

100 % prevalence bakteriální infekce zjištěna třikrát u skupiny neošetřované ozónem a u skupiny ošetřené ozónem jen dvakrát. Bezpochyby výskyt bakteriální infekce v průběhu celého experimentu byl ovlivněn použitím krátkodobé preventivní koupele přípravkem Chloramin, který byl u obou skupin a druhů ryb použit jednotně 11krát v 28 denních intervalech. Realizace těchto koupelí byla provozně nezbytná, neboť by masivní rozvoj bakteriální infekce mohl způsobit vysoké ztráty na odchovávaných rybách, a tím by znemožnil další pozorování.



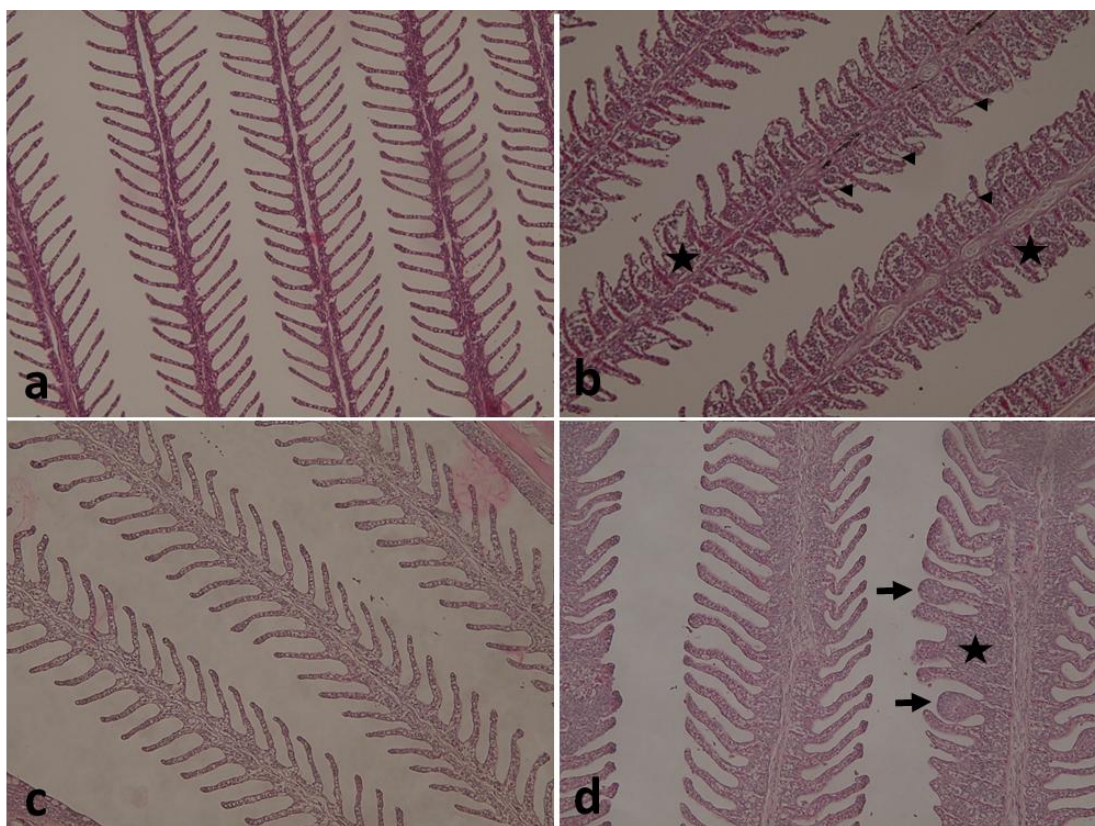
graf č.10 - Procentuální prevalence bakteriální infekce v rámci suspektní diagnózy u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých obou testovaných skupin v průběhu 231 denního odchovu

#### 4.10. Histologické vyšetření žaber odchovávaných ryb

##### Změny na žábrách u candátů obecných

Na začátku experimentu u kontrolní skupiny candátů obecných chovaných ve vodě bez ošetření ozónem nebyly zaznamenány závažné patologické změny viz. obr. 12a. Ve stejné době u skupiny candátů chovaných ve vodě ošetřované ozónem vykazoval žaberní epitel větší hyperplazické změny, které měly za následek částečné slepení žaberních lamel s mírným zvednutím epitelu viz obr. 12b. Po 231 denním odchovu a následném sledování byly žábry candátů kontrolní skupiny minimálně hypertrofické, s nepatrnými známkami vakuolizace epiteliálních buněk a žábry vykazovaly normální stav viz. obr. 12c. Proti tomu candáti chovaní v RAS s ozonizovanou vodou vykazovali

výraznější změny na žábřácích. Zaznamenána byla hypertrofie vedoucí ke spojení žaberních lamel s okolím v distální části. Dále byla zjištěna hyperemie epiteliálních buněk viz. obr. 12d.

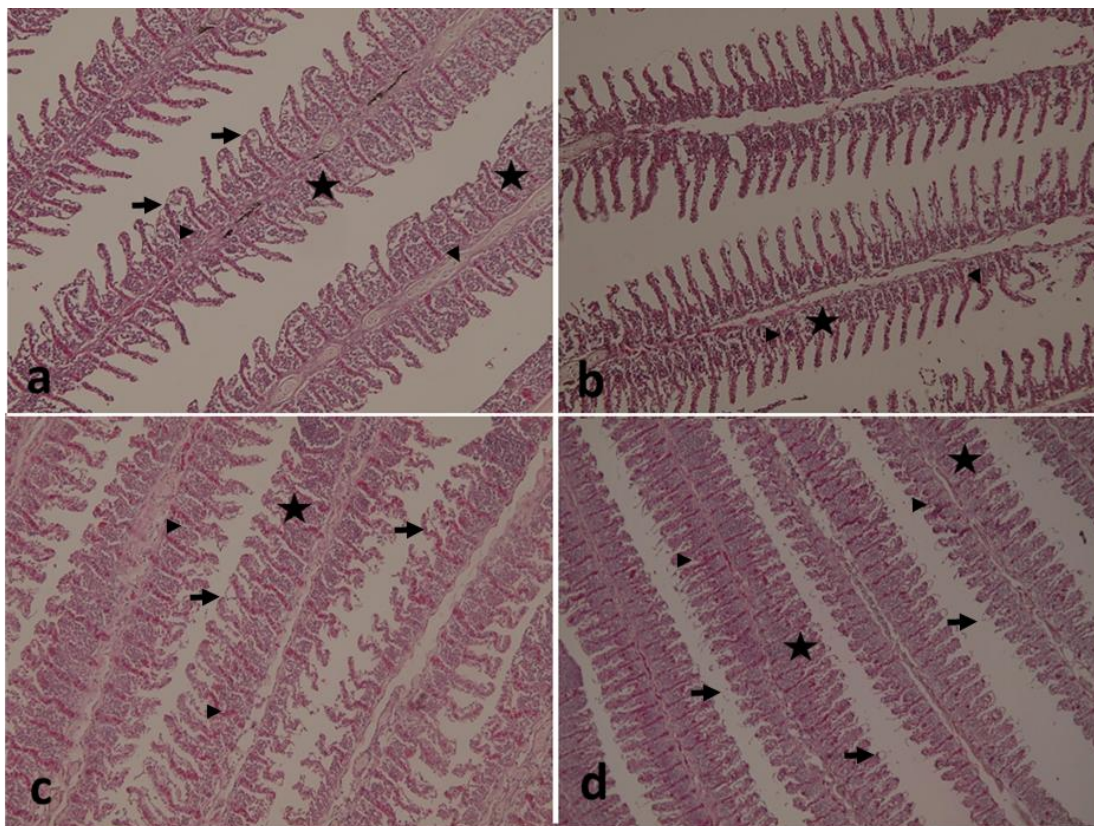


obr.č.12 - Žaberní tkáň odchovávaných candátů obecných: a = kontrolní skupina odchovávaná v RAS bez ozonizace vody na počátku experimentu; b= skupina chovaná v RAS s ozonizovanou vodou na počátku experimentu; c= kontrolní skupina po 231 denním odchovu bez ozonizace; d= skupina chovaná v ozonizované vodě po 231 denním odchovu Hypertrofické změny (hvězdička) spojení lamel a zvednutí epitelu (šipka).

### Změny na žábřácích u sumců velkých.

U obou sledovaných skupin sumců velkých (sumec ozón+ a sumec ozón -) viz obr. č. 13 a-d byla zaznamenána hypertrofie žaberního epitelu s jeho částečným slepením a hyperemií včetně krvácenin. Žaberní epitel byl mírně až středně silně zvednutý a byly v něm zaznamenány ruptury. Obecně se patologické změny na žábřácích zhoršovaly a gradovaly směrem ke konci odchovu u obou testovaných skupin. Sledované patologické změny na žábřácích odchovaných sumců byly pravděpodobně především způsobeny vyšší intenzitou a prevalencí výskytu bakteriálních onemocnění odchovávaných ryb

v porovnání s vlivem ozonizace či nevyužití ozonizace vody v RAS na tento sledovaný problém.



obr.č.13 - Žaberní tkáň odchovávaných sumců velkých: a = kontrolní skupina chovaná v RAS bez ozonizace vody na začátku experimentu; b = skupina sumců velkých chovaná v RAS s ozonizovanou vodou na začátku experimentu; c = kontrolní skupina chovaná v RAS bez ozonizace vody po 231 denním odchovu a d = skupina sumců velkých odchovávaných v RAS s ozonizovanou vodou po 231 denním odchovu. Hypertrofické změny (hvězdička) spojení lamel a zvednutí epitelu (šipka).

#### 4.11. Detailní výsledky týkající se úrovně oxidativního

Zjištěné výsledky oxidativního stresu a výskytu antioxidantních enzymů u odchovávaných candátů obecných a sumců velkých jsou uvedeny v tabulkách č. 8 a 9. U odchovávaných candátů byly zjištěny jen dva rozdíly v rámci těchto analýz mezi oběma testovanými skupinami. První rozdíl se týkal vyššího oxidativního stresu (vyšší hodnoty TBARS a vyšší aktivity lipidní peroxidace) u žaber candátů chovaných na začátku odchovu (až do 35. dne odchovu) v RAS bez ošetřené vody ozónem oproti candátům chovaným v RAS s ošetřenou vodou ozónem. Ovšem tento rozdíl nebyl na konci odchovu potvrzen a byl pravděpodobně v průběhu odchovu potlačen. Druhým

zjištěným rozdílem v rámci těchto analýz mezi sledovanými skupinami candátů bylo zjištění vyššího výskytu antioxidantního enzymu SOD (superoxidní dismutázy) 14. den experimentu u žaber candátů vyskytujících se v RAS s ošetřovanou vodou ozónem. Ovšem tyto rozdíly už nebyly v dalších analýzách nijak potvrzeny.

V průběhu experimentu byly u intenzivně chovaných sumců velkých pozorované výraznější změny týkající se výskytu antioxidantních enzymů mezi oběma testovanými skupinami, než tomu tak bylo u candátů obecných. Naopak žádné rozdíly mezi skupinami u tohoto druhu nebyly zjištěny u úrovně oxidativního stresu, který byl charakterizovaný hodnotou TBARS. U jater ryb v rámci skupiny odchovávaných sumců velkých v RAS s ozonizací vody byla na začátku a na konci odchovu zjištěna vyšší hladina SOD a na konci odchovu nižší hodnota CAT oproti skupině chované v RAS bez ozonizace vody. U žaber ryb sumce velkého odchovávaného v RAS s ozonizací vody byly zjištěny nižší hodnoty SOD na začátku odchovu a vyšší hodnoty CAT na konci odchovu oproti skupině sumce velkého chovaného v RAS bez ozonizace vody. Obecně zjištěné rozdíly u obou druhů ryb a testovaných skupin byly velmi malé.

#### Výsledky zjištěné u candáta obecného

Parametr	Tkáň	Doba expozice (dny)	Testovaná skupina					
			RAS bez ošetření vody ozónem	RAS s vodou ošetřenou ozónem				
TBARS	mmol/mg proteinu	Játra	Začátek experimentu	0,416 ± 0,05	0,416 ± 0,04			
			14.den	0,454 ± 0,14	0,356 ± 0,05			
			35.den	0,438 ± 0,11	0,430 ± 0,08			
			Konec experimentu	0,679 ± 0,14	0,709 ± 0,25			
			Začátek experimentu	0,611 ± 0,03	0,445 ± 0,05**			
		Žábra	14.den	0,541 ± 0,03	0,328 ± 0,10**			
			35.den	0,382 ± 0,10	0,250 ± 0,02**			
			Konec experimentu	0,431 ± 0,08	0,488 ± 0,06			
			SOD	n/m	Játra	Začátek	0,365 ± 0,03	0,353 ± 0,02

		experimentu			
		14.den	0,309 ± 0,05	0,311 ± 0,06	
		35.den	0,253 ± 0,07	0,270 ± 0,08	
		Konec	0,291 ± 0,06	0,325 ± 0,16	
		experimentu			
		Začátek	0,134 ± 0,05	0,144 ± 0,02	
		experimentu			
	Žábra	14.den	0,152 ± 0,03	0,225 ± 0,04*	
		35.den	0,137 ± 0,05	0,183 ± 0,04	
		Konec	0,462 ± 0,11	0,535 ± 0,14	
		experimentu			
CAT	μmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /min/mg proteinu	Začátek	0,824 ± 0,18	0,820 ± 0,05	
		experimentu			
		Játra	14.den	0,744 ± 0,17	0,637 ± 0,17
			35.den	0,737 ± 0,34	0,783 ± 0,17
			Konec	1,080 ± 0,15	1,354 ± 0,41
		experimentu			
	Začátek	0,045 ± 0,01	0,032 ± 0,02		
	experimentu				
	Žábra	14.den	0,030 ± 0,01	0,029 ± 0,01	
		35.den	0,050 ± 0,03	0,025 ± 0,01	
		Konec	0,040 ± 0,02	0,056 ± 0,02	
	experimentu				
GR	μmol NADPH/min/mg proteinu	Začátek	0,078 ± 0,05	0,104 ± 0,07	
		experimentu			
		Játra	14.den	0,078 ± 0,04	0,121 ± 0,02
			35.den	0,210 ± 0,09	0,163 ± 0,08
			Konec	0,148 ± 0,08	0,145 ± 0,04
		experimentu			
	Začátek	0,333 ± 0,09	0,330 ± 0,10		
	experimentu				
	Žábra	14.den	0,307 ± 0,05	0,420 ± 0,08	
		35.den	0,308 ± 0,07	0,350 ± 0,06	
		Konec	0,372 ± 0,03	0,499 ± 0,10	
	experimentu				
GST	/mg Játra	Začátek	1,773 ± 0,49	1,922 ± 0,27	

		<b>experimentu</b>		
		<b>14.den</b>	<b>1,840 ± 0,58</b>	<b>1,429 ± 0,50</b>
		<b>35.den</b>	<b>2,135 ± 1,28</b>	<b>1,966 ± 0,67</b>
		<b>Konec</b>	<b>2,106 ± 0,65</b>	<b>2,628 ± 0,80</b>
		<b>experimentu</b>		
		<b>Začátek</b>	<b>0,669 ± 0,17</b>	<b>0,919 ± 0,15</b>
		<b>experimentu</b>		
<b>GSH</b>	<b>Žábra</b>	<b>14.den</b>	<b>0,767 ± 0,10</b>	<b>1,007 ± 0,12</b>
		<b>35.den</b>	<b>0,713 ± 0,16</b>	<b>0,756 ± 0,18</b>
		<b>Konec</b>	<b>0,948 ± 0,25</b>	<b>1,271 ± 0,27</b>
		<b>experimentu</b>		
		<b>Začátek</b>	<b>23,889 ± 2,19</b>	<b>25,636 ± 3,05</b>
		<b>experimentu</b>		
	<b>Játra</b>	<b>14.den</b>	<b>24,541 ± 3,83</b>	<b>26,358 ± 4,00</b>
		<b>35.den</b>	<b>23,489 ± 6,04</b>	<b>29,121 ± 1,80</b>
		<b>Konec</b>	<b>33,645 ± 3,54</b>	<b>34,973 ± 4,99</b>
		<b>experimentu</b>		
<b>Začátek</b>		<b>6,747 ± 0,58</b>	<b>7,561 ± 0,92</b>	
<b>experimentu</b>				
<b>mmol GSH/mg proteinu</b>	<b>Žábra</b>	<b>14.den</b>	<b>6,422 ± 0,86</b>	<b>6,436 ± 0,85</b>
		<b>35.den</b>	<b>7,213 ± 1,46</b>	<b>7,173 ± 0,44</b>
		<b>Konec</b>	<b>10,691 ± 1,71</b>	<b>10,853 ± 1,38</b>
		<b>experimentu</b>		
		<b>experimentu</b>		
		<b>experimentu</b>		

tab.č.8 - Úroveň oxidativního stresu a výskyt antioxidantních enzymů při odchovu candáta obecného v průběhu 231 denního intenzivního odchovu v RAS s či bez ozonizované vody. Data ± SD, n = 10. \* a \*\* znázorňují signifikantní rozdíly mezi skupinami. \*p<0,05; \*\*p<0,01.



## Výsledky zjištěné při odchovu sumce velkého

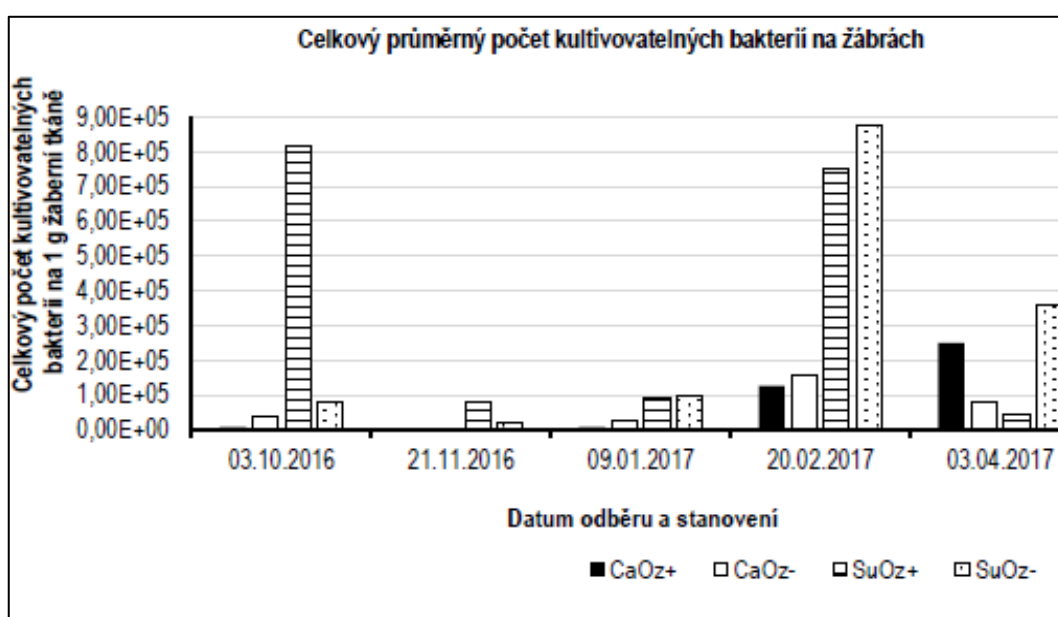
Parametr	Tkáň	Doba expozice (dny)	Testovaná skupina		
			RAS bez ošetření vody ozónem	RAS s vodou ošetřenou ozónem	
TBARS	mmol/mg proteinu	Začátek experimentu	0,295 ± 0,02	0,325 ± 0,02	
		Játra	14.den	0,327 ± 0,09	0,292 ± 0,03
		35.den	0,371 ± 0,13	0,307 ± 0,01	
		Konec experimentu	0,416 ± 0,03	0,433 ± 0,02	
		Začátek experimentu	0,240 ± 0,01	0,242 ± 0,02	
		Žábra	14.den	0,228 ± 0,03	0,208 ± 0,02
	35.den	0,220 ± 0,03	0,222 ± 0,03		
	Konec experimentu	0,433 ± 0,02	0,321 ± 0,02		
	mmol NBT/min/mg proteinu	Játra	Začátek experimentu	0,464 ± 0,05	0,349 ± 0,04*
		14.den	0,412 ± 0,06	0,436 ± 0,09	
		35.den	0,395 ± 0,08	0,405 ± 0,05	
		Konec experimentu	0,637 ± 0,07	0,504 ± 0,09*	
Žábra		Začátek experimentu	0,449 ± 0,09	0,206 ± 0,03**	
14.den		0,245 ± 0,08	0,129 ± 0,08*		
35.den	0,160 ± 0,06	0,088 ± 0,03			
Konec experimentu	0,208 ± 0,04	0,224 ± 0,04			
min μmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /min/mg proteinu	Játra	Začátek experimentu	0,674 ± 0,05	0,672 ± 0,15	
	14.den	0,614 ± 0,12	0,591 ± 0,04		
	35.den	0,525 ± 0,12	0,576 ± 0,06		
	Konec experimentu	0,670 ± 0,07	0,416 ± 0,08**		
	Žábra	Začátek experimentu	0,077 ± 0,02	0,099 ± 0,04	
	14.den	0,072 ± 0,02	0,065 ± 0,02		
35.den	0,077 ± 0,01	0,054 ± 0,01			
Konec experimentu	0,085 ± 0,02	0,143 ± 0,02**			
GR	Játra	Začátek	0,093 ± 0,07	0,075 ± 0,04	

		<b>experimentu</b>		
		14.den	0,189 ± 0,13	0,092 ± 0,03
		35.den	0,088 ± 0,04	0,107 ± 0,07
		<b>Konec experimentu</b>	<b>0,090 ± 0,04</b>	<b>0,071 ± 0,03</b>
		<b>Začátek</b>		
		<b>experimentu</b>		
<b>GST</b>	<b>Žábra</b>	14.den	0,073 ± 0,02	0,124 ± 0,09
		35.den	0,095 ± 0,06	0,093 ± 0,07
		<b>Konec experimentu</b>	<b>0,093 ± 0,05</b>	<b>0,087 ± 0,05</b>
		<b>Začátek</b>		
		<b>experimentu</b>		
		14.den	5,684 ± 1,38	5,684 ± 1,39
	35.den	6,847 ± 1,37	6,883 ± 0,87	
	<b>Konec experimentu</b>	<b>9,498 ± 1,29</b>	<b>10,384 ± 0,71</b>	
	<b>Začátek</b>			
	<b>experimentu</b>			
	14.den	2,778 ± 0,73	2,439 ± 0,56	
	35.den	2,831 ± 0,50	2,655 ± 0,77	
<b>Konec experimentu</b>	<b>3,967 ± 0,30</b>	<b>3,789 ± 0,22</b>		
		<b>Začátek</b>	<b>17,544 ± 2,41</b>	<b>18,044 ± 3,85</b>
		<b>experimentu</b>		
<b>GSH</b>	<b>Játra</b>	14.den	17,985 ± 3,93	14,664 ± 4,75
		35.den	17,614 ± 2,91	15,321 ± 2,77
		<b>Konec experimentu</b>	<b>22,209 ± 2,75</b>	<b>24,729 ± 2,34</b>
		<b>Začátek</b>		
		<b>experimentu</b>		
		14.den	6,286 ± 1,04	5,887 ± 1,24
	35.den	5,916 ± 0,90	5,906 ± 1,32	
	<b>Konec experimentu</b>	<b>10,291 ± 0,94</b>	<b>10,310 ± 0,61</b>	

tab.č. 9 - Úroveň oxidativního stresu a výskyt antioxidantních enzymů při odchovu sumce velkého v průběhu 231 denního intenzivního odchovu v RAS s či bez ozonizované vody. Data ± SD, n = 10. \* a \*\* znázorňují signifikantní rozdíly mezi skupinami. \*p<0,05; \*\*p<0,01.

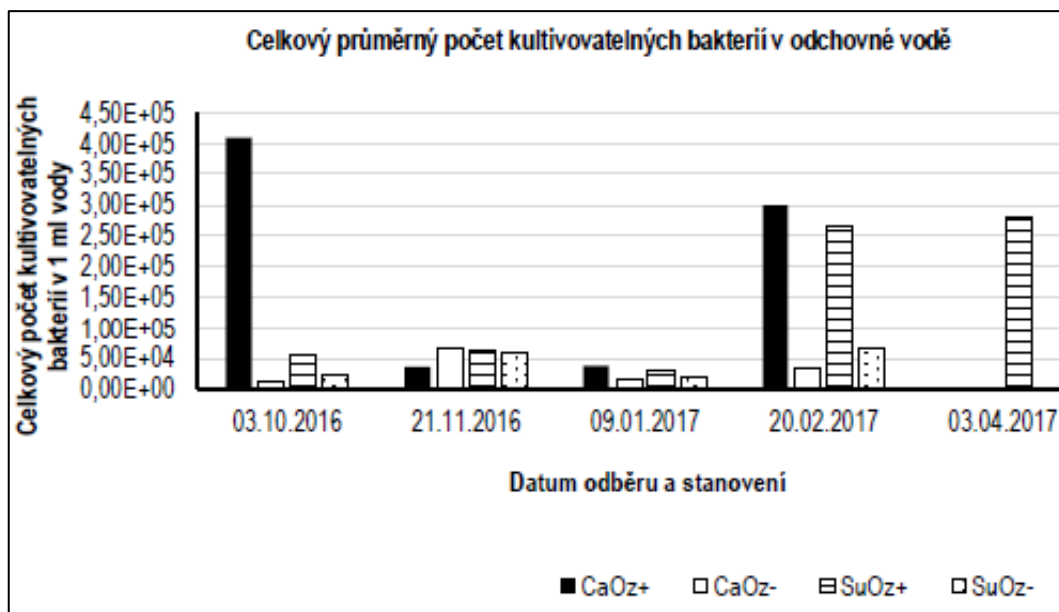
#### 4.12. Laboratorní bakteriologické vyšetření vzorků žaber ryb a vody

Laboratorní bakteriologické vyšetření žaber odchovávaných ryb obecně potvrdilo vyšší bakteriální infekci žaber u intenzivně odchovávaných ryb sumce velkého v průběhu odchovu oproti candátovi obecnému, který je na vyšší bakteriální infekci žaber velmi citlivý. Tyto výsledky potvrdily výsledky suspektního bakteriologického vyšetření odchovávaných ryb. Jak je patrné z grafu č. 11, celkový počet kultivovatelných bakterií se u obou druhů v průběhu odchovu významně měnil, což bylo s největší pravděpodobností způsobeno aplikací zmíněných léčebných procedur, které byly v použitých RAS průběhu odchovu aplikovány.



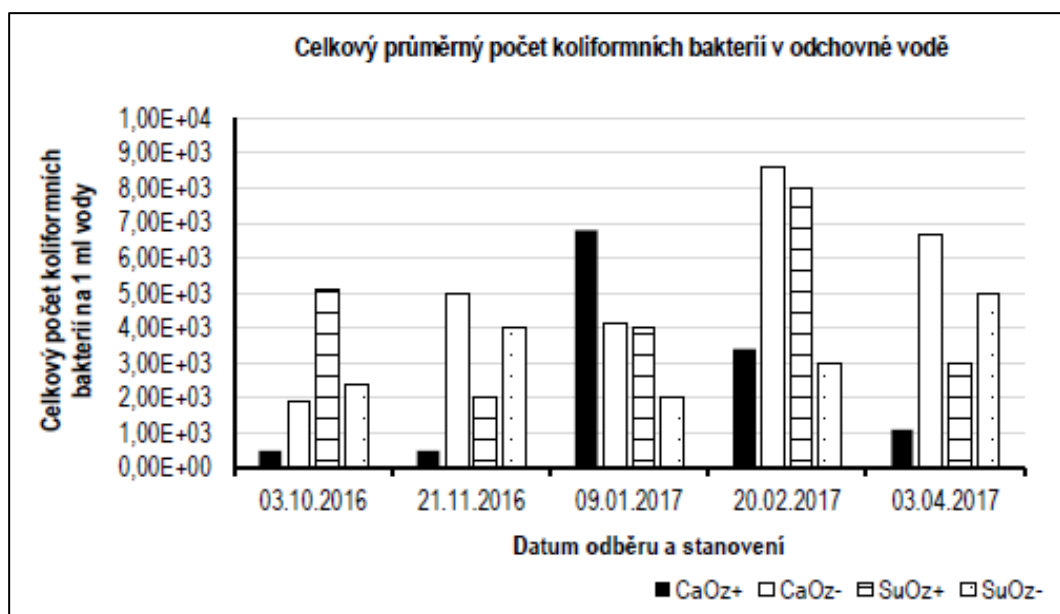
graf č. 11 - Celkový průměrný počet kultivovatelných bakterií (CPM) na 1 g tkáně žaber odchovávaných ryb candáta obecného a sumce velkého

Výsledky bakteriální kontaminace vody, v podobě celkového počtu kultivovatelných bakterií vyskytujících se v odchovných nádržích, jsou poměrně překvapivé, jelikož nejvyšší hodnoty kontaminace byly dosaženy u odchovných nádrží, které byly napojeny na RAS využívající ozonizaci vody. Pochopitelně byl díky očekávanému pozitivnímu vlivu očekáván spíše opačný trend. Jestliže porovnáme dynamiku bakteriální infekce žaber ryb a kontaminace vody v odchovných nádržích je možné u obou grafů 11 a 12 spatřit velmi podobný nárůst infekce/ kontaminace a následný pokles. I tento parametr bakteriální kontaminace vody byl pravděpodobně stejně tak ovlivněn léčebnými zákroky.



graf č.12 - Celkový počet kultivovatelných bakterií (CPM) na 1 ml vody odchovných nádrží

Detailní výsledky kontaminace vody celkovým počtem koliformních bakterií v odchovných nádržích obou druhů a skupin testovaných ryb jsou uvedeny v grafu č. 13. Je zajímavé, že koliformní bakterie plně nekopírovaly dynamiku výskytu celkového počtu kultivovatelných bakterií. Na začátku odchovu byl výskyt koliformních bakterií ve vodě obecně nižší u většiny testovaných druhů a skupin ryb. Postupně s odchovem se počet koliformních bakterií a jejich biomasa zvyšovala, což souviselo s postupnými fekálním a organickým zatížením daných RAS. Nárůst koliformních bakterií nebyl nijak dramatický, což svědčilo o dobře provozovaných RAS.



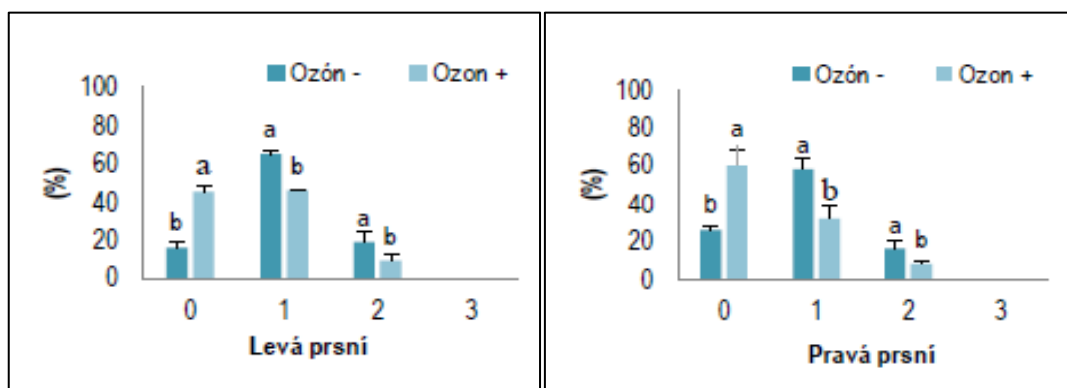
graf č. 13 - Celkový počet koliformních bakterií (CPM) na 1 ml vody odchovných nádrží

#### 4.14. Posouzení stavu a poškození ploutví

Detailní zpracované a vyhodnocené výsledky týkající se stupně poškození ploutví u obou odchovávaných druhů ryb v závislosti na použité či nepoužité ozonizaci vody v RAS jsou sumarizovány v grafech níže. Hodnocení bylo uskutečněno na základě těchto parametrů: 0 – minimální rozpad ploutví, (< 5% poškození ploutve), 1 – malý rozpad ploutve (>5% poškození < 30%), 2 - střední rozpad ploutve (>30% poškození < 70%) a 3 - úplný rozpad ploutve (poškození > 70%).

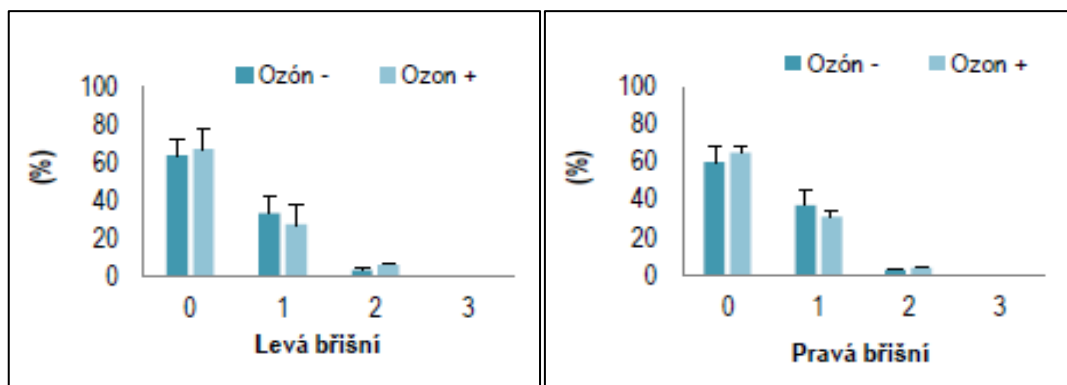
U candáta obecného ve skupině s ozonizovanou a neozonizovanou vodou byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi stupněm poškození pravé a levé prsní, velké hřbetní a ocasní ploutve. U ryb bez ozonizace vody u prsních ploutví bylo zjištěno vyšší zastoupení významějšího stupně poškození (1. stupeň – 55 – 65 % a 2. stupeň – 18 - 20 %) oproti skupině ryb s ozonizací vody (1. stupeň – 38 - 42 % a 2. stupeň – 8 – 10 %). Stejný trend byl zjištěn u stupně poškození velké hřbetní ploutve, kdy u skupiny candátů bez ozonizace vody byl zjištěn 1. stupeň poškození u 50 % ryb oproti stejnému poškození stejné ploutve u 38 % ryb candáta obecného s ozonizací vody. Nejvíce u candáta obecného byla poškozena ocasní ploutev, kdy bylo dosaženo dokonce 2. stupně poškození. Tento stupeň poškození byl u ryb candáta obecného bez ozonizace vody zaznamenán u 27 % ryb a u ryb s ozonizací jen u 16 %. První stupeň poškození ocasní ploutve byl u candáta obecného s ozonizací vody potvrzen u 76 % ryb a u skupiny bez ozonizace vody u 67 % ryb. Ostatní ploutve byly poškozeny velmi podobným

způsobem nicméně bez statistických rozdílů mezi testovanými skupinami. Obecně u sumce velkého byly téměř všechny ploutve více postižené různým stupněm poškození, který byl různě statisticky průkazný mezi testovanými skupinami. U všech ploutví byl zaznamenán druhý stupeň poškození ploutví. Jeho procentuální výskyt byl vždy statisticky vyšší u skupiny bez ozonizace vody v RAS oproti skupině s ozonizací vody. Nejvíce poškozenými ploutvemi byly ploutve prsní (2. stupeň – 70 – 75% u skupiny sumec ozón – a 50 – 55 % u skupiny sumec ozón + a 1. stupeň – 45 – 50 % sumec ozón + a 25 – 30 % sumec ozón-) a ocasní (2. stupeň – 53 % u skupiny sumec ozón – a 24 % u skupiny sumec ozón + a 1. stupeň - 62 % u skupiny sumec ozón + a 43 % u skupiny sumec ozón -). Nejméně byly poškozeny ploutve břišní, hřbetní a řitní, kdy vyšší stupeň poškození těchto ploutví byl vždy sledován u skupiny sumec ozón -. Srovnání poškození ploutví u skupin candát ozon – a candát ozon +, a sumec ozon – a sumec ozon + je patrné z jednotlivých grafů č. 14-28.



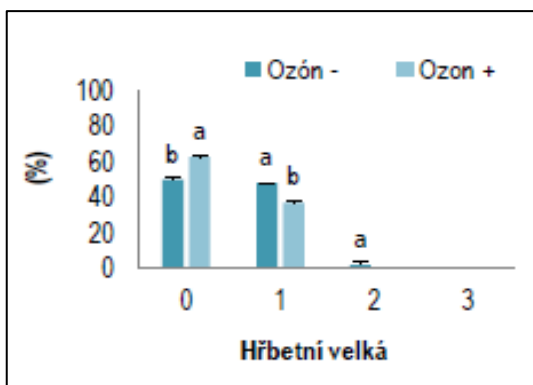
graf č. 14 - levá prsní ploutev

graf č. 15 – pravá prsní ploutev

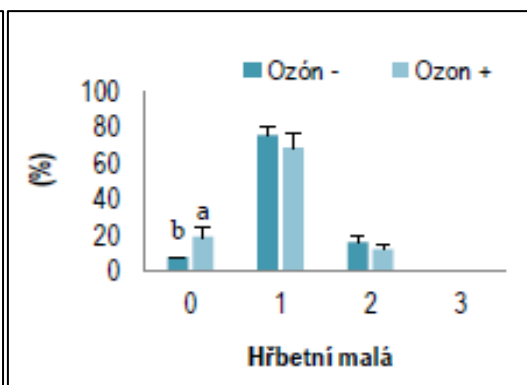


graf č. 16 – levá prsní ploutev

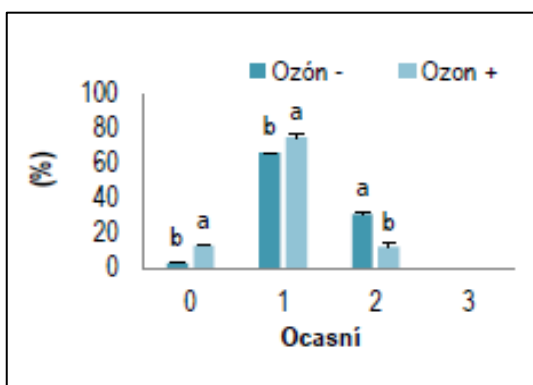
graf č. 17 – pravá prsní ploutev



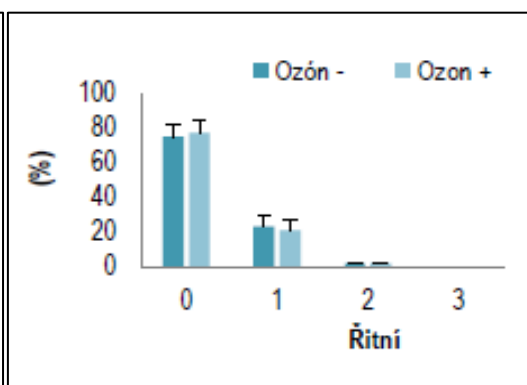
graf č. 18 – velká hřbetní ploutev



graf č. 19 – malá hřbetní ploutev

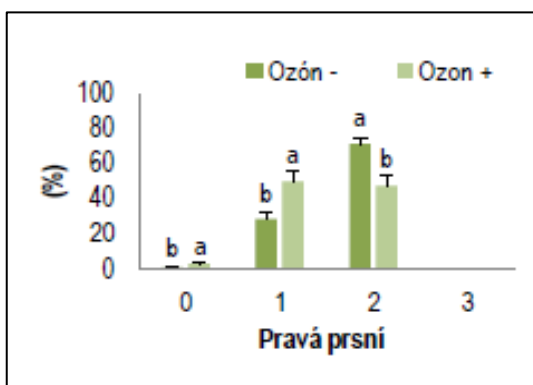


graf č. 20 – ocasní ploutev

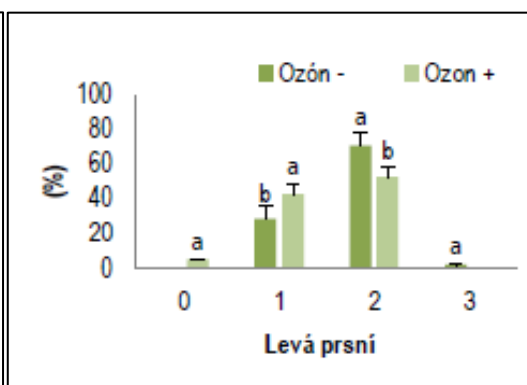


graf č. 21 – řitní ploutev

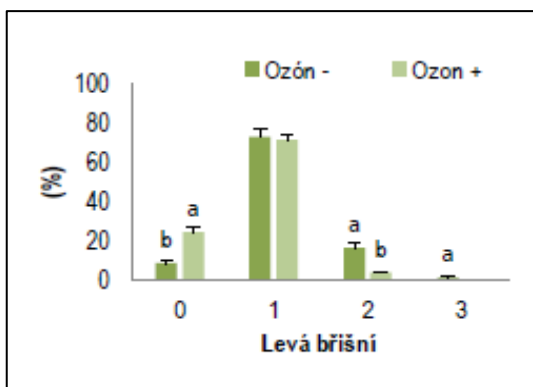
V grafech č. 14 - 21 lze vidět rozsah poškození jednotlivých ploutví u candáta obecného. Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ( $p < 0,05$ ).



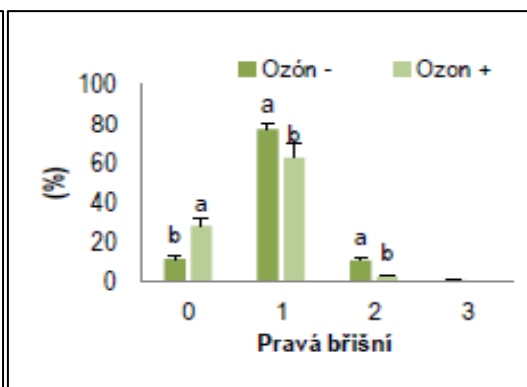
graf č. 22 – pravá prsní ploutev



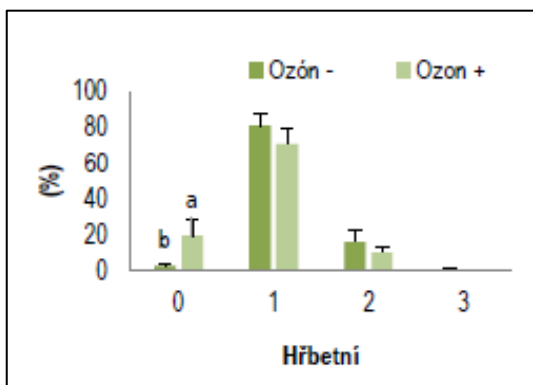
graf č. 23 – levá prsní ploutev



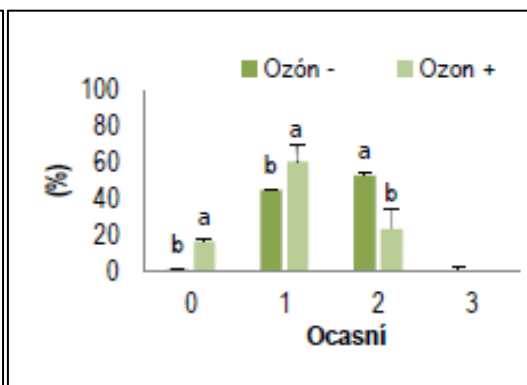
graf č. 24 – levá břišní ploutev



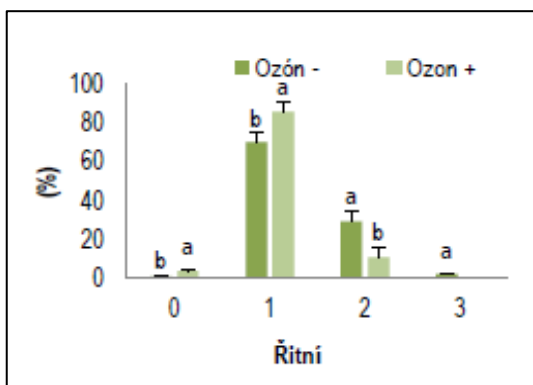
graf č. 25 – pravá břišní ploutev



graf č. 26 – hřbetní ploutev



graf č. 27 – ocasní ploutev



graf č. 28 – řítní ploutev

V grafech č. 22-28 lze vidět rozsah poškození jednotlivých ploutví u candáta obecného. Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ( $p < 0,05$ ).



#### 4.15. Stanovení a vyhodnocení SSI, HSI a VSI

Výsledky procentuálních hmotnostních podílů sleziny (SSI = Spleen Somatic Index), jater (HSI = Hepato Somatic Index) a tělního tuku (VSI = Viscero Somatic Index) jsou uvedeny v tabulce č. 10. Z výsledků je patrné, že byly pozorovány větší sleziny u ozonizovaných candátů oproti candátům pocházejících z neozonizované vody. Opačné výsledky byly zjištěny při stanovení HSI, kdy candáti pocházející z ozonem ošetřené vody měli menší játra při srovnání s candáty, kteří pocházeli z RAS s ozonem neupravenou vodou. U obou skupin sumce velkého byly játra i sleziny stejně velké. U tělního tuku byly zaznamenány rozdíly u sumce, kde v ozonizované vodě byl hmotnostní podíl tělního tuku 1,8 krát vyšší než u sumce chovaného ve vodě neozonizované. Podíl tělního tuku u odchovaných candátů byl stejný mezi oběma skupinami a obecně byl na vysoké úrovni, kdy je možné konstatovat, že odchovaní candáti v obou skupinách měli obecně problém s metabolismem tuků, což negativně ovlivňovalo funkci sleziny a jater u obou skupin bez ohledu na ošetření ozónem.

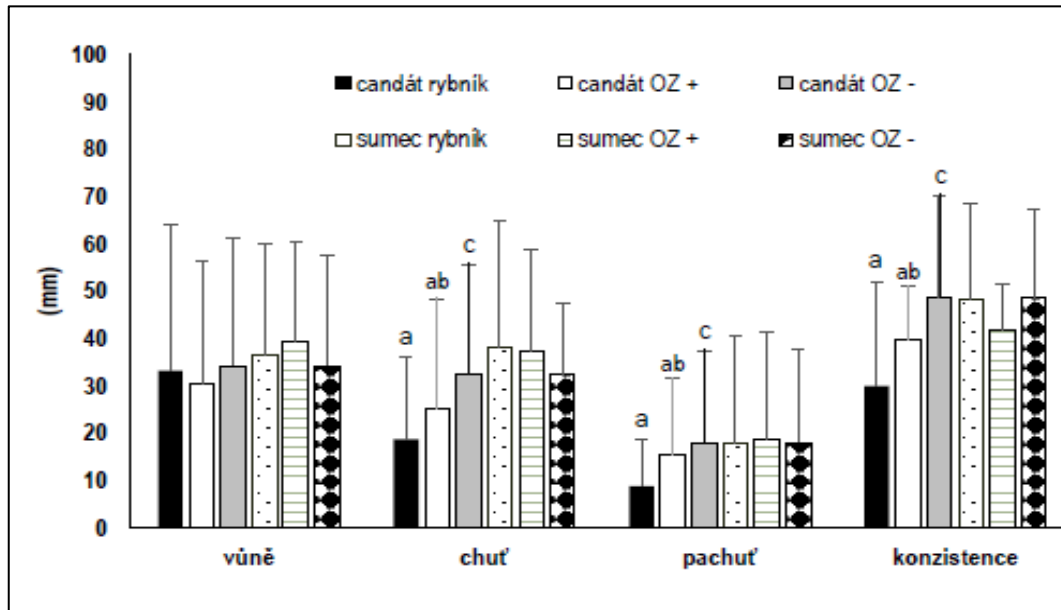
	SSI (%)	HSI (%)	VSI (%)
candát ozon -	0,04 ± 0,05b	1,77 ± 0,27a	5,62 ± 1,65a
candát ozón +	0,09 ± 0,03a	1,34 ± 0,31b	5,66 ± 1,28a
sumec ozón -	0,07 ± 0,02a	1,43 ± 0,46a	1,65 ± 0,5b
sumec ozón +	0,07 ± 0,02a	1,59 ± 0,19a	2,95 ± 0,7a

tab.č.10 - Vyhodnocení SSI, HSI a VSI u odchovaných candátů obecných a sumců velkých

#### 4.16. Výsledky senzorické analýzy svaloviny odchovaných candátů obecných a sumců velkých na konci 231 denního experimentálního odchovu

V senzorickém profilu masa candátů původem z rybníčních, ozonizovaných a neozonizovaných vod byly shledány významné rozdíly. Z analýzy dat získaných na nestrukturované grafické stupnici vyplývá, že chuť masa byla nejpříznivěji hodnocena ve skupině extenzivně chovaných ryb v rybníčních podmínkách a u ryb chovaných v ozonizované vodě. Pachuť masa candátů byla nejméně identifikována ve skupině candátů odchovávaných v rybnících. Následovali candáti chovaní v ozonizované vodě. Rovněž parametr konzistence vykazoval významný rozdíl v porovnávaných skupinách

candáta obecného se stejnými rozdíly mezi skupinami jako u chuti a pachuti. Žádné rozdíly mezi skupinami u candáta obecného nebyly zaznamenány pro parametr vůně masa. U odchovaných sumců velkých nebyly nalezeny mezi jednotlivými skupinami u všech hodnocených parametrů statistické rozdíly. Tento fakt byl pravděpodobně způsoben typickou a poměrně silnou vůní, chutí a konzistencí masa sumce velkého, kdy druhová charakteristika těchto parametrů absolutně vymazala vliv testovaných skupin (sumec ozón+ a sumec ozón -).



graf.č.29 - Senzorická analýza profilu masa odchovaných ryb candáta obecného a sumce velkého pocházejících z rybníčních podmínek a z RAS s ozonizovanou a neozonizovanou vodou. Hodnoty s odlišným indexem jsou statisticky rozdílné ( $p < 0,05$ )

## 5. Diskuze

Ve své publikaci Kestemont a kol. (2004) uvádí, že by krmivo pro candáta obecného mělo ideálně obsahovat nižší podíl tuků s hodnotou nepřesahující 16 %. V průběhu odchovu byly pozorovány patologické změny jaterní tkáně. Jednalo se především o takzvanou tukovou degeneraci jater. Tento stav je zapříčiněn nadměrným zatížením organismu přijatými tuky, které není tělo schopno zpracovat, a proto se ukládají v jaterní tkáni. Játra jsou výrazně větší, bílá až nažloutlá. Tato skutečnost byla způsobena především nevhodně zvolenou krmnou směsí pro candáta obecného, která měla obsah tuků 20-22 %. Důležité je zmínit, že pro candáta zatím není vyvinuta kompletní krmná směs s optimálním složením, které by vyhovovalo jeho nutričním požadavkům.

V našem experimentu byly experimentální ryby chovány v intenzivních podmínkách téměř 13 měsíců a po této době vykazovala skupina candát ozon+ hmotnost  $W = 130,0 \pm 26,2$  gramů a u candátů odchovávaných bez ozonizace vody bylo dosaženo hmotnosti  $W = 123,5 \pm 21,3$  gramů. Ačkoliv cílem tohoto experimentu nebylo dosáhnout co možná nejrychlejšího růstu ryb, ale zjistit vliv ozonizace či neozonizace vody na odchovávané ryby a další parametry, ryby vykazovaly na konci odchovu velice nízkou průměrnou kusovou hmotnost. Zienert a Heidrich (2005) docílili po 13 měsících intenzivního chovu v RAS hmotnosti tržních ryb okolo 900 g. Ryby candáta obecného v našem experimentu vykazovaly po shodné době intenzivního odchovu téměř 6 x nižší kusovou hmotnost, a to bez ohledu na to, zda byla či nebyla použita ozonizace vody. Nízkou výslednou kusovou hmotnost mělo zřejmě na svědomí hned několik faktorů. Jako první z nich je jistě možné vyjmenovat nízkou počáteční obsádku ryb, dále nevhodnou barvu a velikost použitých odchovných nádrží, a nakonec nedokonalou krmnou směs s příliš vysokým obsahem tuků. Z tohoto důvodu je nutné rybářské praxi určitě doporučit využívat k intenzivnímu odchovu candátů vyšší používané hustoty odchovávaných ryb, prostornější a tmavší odchovné nádrže, které by odchovávaným rybám candáta obecného poskytovaly větší pocit bezpečnosti, a nakonec pokud možno nízkotučná krmiva.

Scharrer a Summerfelt (2007) konstatují, že ozon je vedle svých baktericidních a virucidních účinků schopný odstraňovat také zákal vody, snižovat množství dusitanů a udržovat řasy na nízké úrovni. Díky uskutečněnému experimentu bylo zjištěno, že ozonizace vody v RAS pomáhá odbourávat organické znečištění vody v podobě

různých organických rozpuštěných či nerozpuštěných látek. Rozdíl mezi RAS kde byla použita ozonizace vody a RAS kde ozonizace vody použita nebyla, byl zřetelný pouhým okem. Průhlednost vody v systému s ozonizací byla řádově vyšší a množství bakteriálního nárůstu na stěnách nádrží bylo výrazně nižší. Tyto závěry byly potvrzeny i podrobnou analýzou množství rozpuštěných a nerozpuštěných látek.

Summerfelt a kol., (1997); Liltved (2003) a Colberg a Lingg (1978) uvádí, že ozonizace vody s reziduální koncentrací na úrovni 0,1 - 0,5 mg.l<sup>-1</sup> až z 99,9% likviduje bakteriální a virové původce onemocnění ryb. Stejná dávka má také dle výše zmíněných autorů za následek významné snížení rybích patogenů. Díky experimentu lze konstatovat, že ozonizace vody využitá při uskutečněném experimentu v RAS při intenzivním chovu candáta obecného a sumce velkého nezabrání výskytu infekce kožovce, ale může mít pozitivní vliv na snížení prevalence této infekce. Na výskyt infekce parazita *Trichodina* sp. ozonizace vody žádný vliv neměla. Obecně lze tedy říci, že ozonizace vody použitá v tomto experimentu měla za následek mírné snížení množství bakterií, avšak zástupce prvoků jako jsou například kožovec rybí, nebo *trichodina* sp. úplně eliminovat nedokázal. Dle mého názoru je vysvětlení této skutečnosti prosté. Díky tomu, že musí být zajištěna nízká reziduální koncentrace ozonu ve vodě vracející se do nádrží k rybám, je dostatečně ošetřována jen protékající voda. Díky tomu může být významně pozitivně změněn obsah nerozpuštěných ale i rozpuštěných látek ve vodě, množství bakterií a dalších jednobuněčných organismů. Nicméně je třeba brát potaz, že cizopasnici, jakými jsou například kožovec rybí, jsou vázány především na ryby. Ačkoliv se pochopitelně také jejich vývojová stadia pohybují volně ve vodě, jsou schopna přežít na stěnách nádrží a v rozvodech vody. To bude pravděpodobně důvod, proč není ozon schopen významně eliminovat tyto nežádoucí návštěvníky.

Autoři Martoň (1984) a Scharrer a Summerfelt (2007), doporučují z důvodu zajištění dostatečných účinků ozonizace vody aplikaci 4 – 5 g čistého ozonu na 1m<sup>3</sup> objemu. Při aplikaci této dávky ozonu by měla být zajištěna dostatečná reziduální koncentrace ozonu po 10 minutách na úrovni 0,2 g/m<sup>3</sup>. Pokud uvážím, že RAS využitý v realizovaném experimentu je konstruovaný na celkový provozní objem 30 m<sup>3</sup>, bylo by nutné dle výše zmíněných autorů aplikovat 120 – 150 g čistého ozonu. V našem experimentu bylo aplikováno celkem 60 g čistého ozonu za 24 hod, tudíž se jednalo o využití méně než poloviční doporučené hodnoty. Autoři zdůrazňují, že je nutné

přizpůsobit aplikovanou dávku ozonu především obsahu organických látek v ošetřované vodě. Nicméně si myslím, že použitá dávka ozonu v uskutečněném experimentu byla nedostatečná, to by mohl být důvod, proč nebyly účinně eliminovány rybí patogeny.

Tvrzení Hamáčkové a kol., (1992) a také Blecha v osobním sdělení (2017) uvádějí, že jedním z nejvýznamnějších problémů způsobující významné produkční ztráty v chovu sumce velkého a candáta obecného je infekce způsobená cizopasníkem Kožovcem rybím (*Ichthyophthirius multifiliis*) je naprosto opodstatněné. Navzdory tomu, že byl kladen důraz na dodržování správných zoohygienických postupů, se ve všech experimentálních skupinách opakovaně objevovala různě silná infekce způsobená právě tímto cizopasníkem.

Kouřil a kol. (2013) konstatuje, že hlavní výhodou desinfekce vody ozonizací, je fakt, že při rozkladu ozonu ve sladké vodě, vzniká velice málo škodlivých vedlejších produktů. Po pečlivém a komplexním hodnocení výsledku z uskutečněného experimentu mohu potvrdit, že ozon se zdá být z tohoto hlediska pro využití ve sladkovodní akvakultuře velice vhodný. V průběhu vyšetřování ryb nebyly zjištěny žádné významné patogenní vlivy, a to ať už na ryby tak na RAS – především na biologické filtry.

Výsledky laboratorního bakteriologického vyšetření vzorků žaber ryb a vody vykazovaly zajímavé výsledky do jisté míry ovlivněné aplikovanými koupelemi. Přirozená dynamika rozvoje bakterií, a to ať už na žábrách ryb nebo v odchovné vodě byla výrazně zkreslena právě díky aplikaci látek s baktericidními účinky. Aby bylo možné objektivně posoudit vliv ozonizace vody na ryby a prostředí odchovných nádrží, bylo by vhodnější vyhnout se aplikaci chemikálií, které měli za úkol eliminovat ztráty na rybách při nadměrném rozvoji patogenů. Ovšem v případě, kdy by nebyly do systémů aplikovány přípravky jako je formaldehyd, persteril, sůl a chloramin, způsobovaly by patogeny pravděpodobně vysoké ztráty na rybách.

Bylo zjištěno, že ozonizace vody má významný vliv na poškození většiny ploutví intenzivně odchovávaných ryb. Ryby, a to ať už sumce velkého tak i candáta obecného vykazovali nižší poškození ploutví vždy v ozonizované vodě. Důvodem bude pravděpodobně nižší množství bakterií v odchovném prostředí v systému, kde byla voda ozonizována. Ačkoliv nelze tuto hypotézu jednoznačně potvrdit dle výsledků zjištěných při stanovení množství bakterií, myslím si, že ozonizace měla na bakterie, jenž způsobují rozpad ploutví významný vliv.

Při porovnání výsledků kumulativního přežití odchovávaných obou druhů ryb i obou skupin v závislosti na využití periodické ozonizace vody a kontinuální ozonizace vody byly zjištěny významné rozdíly především u candátů obecných. Periodická ozonizace vody, kdy byla využita vyšší dávka ozonu po kratší časový úsek, vykazovala lepší výsledky v podobě přežití odchovávaných candátů o přibližně 10 %, což je po 126 dnech celkem vysoké číslo. Periodická ozonizace vody měla pozitivní vliv na odchovávané candáty a očekávaný vliv na významné rybí patogeny, které mohou způsobit úhyn ryb. Z tohoto důvodu lze tedy doporučit v následujících experimentech či praktickém využití ozonizace vody právě periodické dávkování ozonu do odchovných systémů.

Pokud shrnu zjištěné výsledky, jistě mohu říci, že se ozonizace ukázala jako vhodná metoda pro zvýšení kvality odchovného prostředí v intenzivním chovu ryb typu RAS. Její vliv je jistě třeba ještě dále prozkoumat a optimalizovat, aby bylo dosaženo co možná nejlepších výsledků. Myslím si, že zjištěné výsledky dostatečně ukazují, klady i zápory využití ozonizace jako technologie pro desinfekci vody. Jistě by bylo na místě, kombinovat ozonizaci vody s dalšími možnými postupy pro zajištění vysoké kvality vody, zdraví a welfare obsádky, a tak k ekonomické prosperitě celého chovu ryb. Myslím tím především využití kombinace ozonizace vody s UV zářením. Pořízení technologie UV zářičů není příliš nákladné ve srovnání s pořízením a provozními náklady na ozonizaci vody. Ostatně výhody kombinace UV a ozonizace vody popisuje ve své publikaci i Liltved (2003). Jako hlavní nevýhodu při využití technologie desinfekce vody pomocí ozonizace vody vidím především nízkou spolehlivost zajištění řádné a dostatečné desinfekce odchovného prostředí při poměrně velkých pořizovacích a také provozních nákladech. Hlavní slabinou je dle mého soudu, působení pouze v jednom místě RAS, kde je sice kvalitně ošetřena cirkulovaná voda, ovšem patogeny které se usídlí ve zbylých částech RAS se celkem nerušeně mohou množit a působit negativně na rybí obsádku. Deozonizační zařízení, které má za úkol zajistit, aby byla do nádrží s rybami uvolněna téměř nulová reziduální koncentrace ozonu tak činní nutně v neprospěch této možná za jiných podmínek účinné metody. Proto je jistě na místě zjistit, zda hodnota reziduální koncentrace ozonu, která by měla být uvolněna do odchovných nádrží s rybami, kde je to nejvíce zapotřebí, může spolehlivě eliminovat rybí patogeny, aniž by přitom ublížila rybí obsádce. Další možností je v následujících experimentech otestovat použití vyšších dávek ozonu aplikovaného do systému.

## 6. Závěr

Ozonizace vody je v akvakultuře stále ještě novou metodou desinfekce, jejíž účinky nejsou dosud úplně známy. Ačkoliv je ozon jistě účinný desinfekční prostředek a jeho klady převažují nad zápory, tak není všemocný, a proto zůstává hlavní zásadou bezproblémového chovu z hlediska rybích patogenů především přísné dodržování zoohygienických zásad chovu. Správně dávkovaný ozon do odchovného prostředí může výrazně zlepšit kvalitu cirkulované vody v RAS. Z tohoto důvodu je na místě nahlížet na tuto technologii spíše jako na zařízení zlepšující kvalitu vody a odchovného prostředí než jako na technickou jednotku spolehlivě zajišťující sterilitu prostředí. Nespornou výhodou ozonizace je v podstatě nezatěžování odchovného prostředí i recipientu nežádoucími metabolity ve srovnání s chemickými preparáty. Při vhodném dávkování také nemá nežádoucí vliv na obsádku. Využití ozonizace vody v RAS má proto jistě své opodstatnění, nicméně se jedná o poměrně nákladnou technologii, a proto je na každém chovateli, zda bude investovat do jejího pořízení, či se bude raději držet osvědčených zásad chovu, jako jsou například nenakupovat jikry ani násady ryb, omezení vstupu potencionálních přenašečů rybích patogenů a využívání kvalitních vodních zdrojů. Aby bylo možné efektivně a spolehlivě využívat desinfekci vody v rybochovných objektech pomocí ozonu, je nutné zjistit jakým způsobem a v jakém množství co nejlépe aplikovat ozon do systému, aby se projevíly pokud možno všechny jeho pozitivní účinky v dostatečné míře. Pokud by byla sjednocena metodika aplikace ozonu do odchovných systémů, mohla by se tato technologie stát nejspolehlivějším způsobem udržení vysoké kvality prostředí a také by bylo možné efektivně eliminovat rybí patogeny. Myslím si, že by také bylo na místě, ověřit kombinaci ozonizace vody s jinou technologií, například s UV zářením.

## 7. Seznam použité literatury

- Adámek, Z., Grecu, I., Metaxa, I., Sabarich, L., Blancheton, J.C., Processing traits of European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758) from outdoor flow-through and indoor recycling aquaculture units, 2015. Journal of applied ichthyology, 31 (Suppl. 2) (2015), 38–44
- Balon, E.K., Momot, W.T., Regier, H.A., 1977. Reproductive guilds of percids: results of the paleogeographical history and ecological succession. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34: 1910-1921.
- Bancroft, J.D., Gamble, M., 2002. Theory and practice of histological techniques, fifth ed. Churchill Livingstone, New York
- Baránek, V., Mareš, J., Prokeš, M., Jirásek, J., Spurný, P., 2005. Možnosti odchovu plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v kontrolovaných podmínkách – krátký přehled. Bulletin VÚRH Vodňany 41.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995. Mihulovci – Petromyzontes a Ryby – Osteichthyes (2). Academia, Praha, 704.
- Beers, R. F., Sizer, I. W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem., 195: 133–140.
- Bebak-Williams, J., Noble, A., Bowser, P.R., Wooster, G.A., 2002: Fish health management. In: Timmons, M.B., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., Summerfelt, S.T., Vinci, B.J. (Eds.), Recirculating Aquaculture Systems, NRAC Publication No. 01-002. Cayuga Aqua Ventures, NY, pp. 427–466.
- Berka, R., Kujal, B., Lavický, K., 1980: Sterilizace vody pro rybochovné účely. Buletin VÚRH Vodňany, č. 1.
- Blancheton, J. P., Eding, E. H., Husson, B., 2002. Recent developments in recirculation systems. In: Basurco, B., Sargolia, M. (eds.): Seafarming today and tomorrow. EAS, Spec.publ. 32, pp. 3–9.
- Bobb, G.A., Fairchild, E.J., 1967: Neutrophil-to-lymphocyte ratio as indicator of ozone exposure. Toxikology and Applied Pharmacology., svazek 11, č. 3.
- Botsjarnikova, A.W., 1952. Danye no biologii rasmnozheniya i razvitiya kubanskogo sudako. Zoologeskij žurnal (in Russian), 31: 122.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1975. Purification and characterization of flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. J. Biol. Chem., 250: 5475–5480.
- Copp, G.H., Britton, J.R., Cucherousset, J., Garcia-Berthou, E., Kirk, R., Peeler, E., Stakenas, S., 209, Voracious invader or benign feline? A review of the enviromental biology of european catfish (*Silurus glanis*) in it's native and introduced ranges. Fish Fish. 10:252- 282



- Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. Rybníkářství. Informatorium. Praha
- Diffey, B.L., 2002: Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, vol. 28, pp. 4-13.
- Dörner, H., Wagner, A., Benndorf, J., 1999. Predation by piscivorous fish on age, spatial and temporal variability in a biomanipulated lake (Bautzen reservoir, Germany), *Hydrobiologia* 408-409: 39-46.
- Dubský, K., 1998. Základy chovu vedlejších druhů ryb. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství v Praze, 35s
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., *Obecné rybníkářství*, 2003. Informatorium spol s.r.o, Praha 206-207 s.
- Dungel, J., Řehák, Z., 2005. Atlas ryb, obojživelníků a plazů České a Slovenské republiky, AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY, Praha, 92.
- Durantel, P., 1999. Příručka rybáře, Příroda a.s., Bratislava, 154-156.
- Dyk, V., 1952. Naše ryby. 3. Vydání, Zdravotnické nakladatelství, Praha, 336s
- Erm, V., 1981. Koha. Tallinn: Valgus, in Estonian, 128.
- Ferrari, A., Venturino, A., de D'Angelo, A.M.P., 2007. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes. *Pestic.Biochem. Physiol.*, 88: 134–142.
- Füllner, G., Pfeifer, M., Langer, N., 2007. Karpfenteichwirtschaft, Bewirtschaftung von Karpfenteichen, Gute Fachliche Praxis. Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden, Germany, 129 s.
- Gaygalas, K.S., Gyarulaytis, A.B., 1974. The ecology of the pike-perch (*Lucioperca lucioperca*) in the Kurshyu Mares basin, the state of its stocks and fishery regulation measures. *Journal of Ichthyology* 14: 514–525.
- Habig, W. H., M. J. Pabst, W. B. Jakoby, J. 1974. Glutathione S-Transferases – First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. *Journal of Biological Chemistry* 249(22): 7130-7139.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Vachta, R., 1992, Odchov ranného plůdku sumce velkého. *VÚRH Vodňany, Edice metodik, č. 40.*, 11s
- Hanel, L., Lusk, S., 2005. Ryby a mihule České republiky, Český svaz ochránců přírody Vlašim, Vlašim, 350-351.
- Hanzon, B.D., Vigilia, R. 1999. UV Disinfection. *Wastewater Technology Showcase*. vol. 2. no. 3. s. 24-28
- Hartman, P., Regenda, J., 2014, *Praktika v rybníkářství*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích FROV, 339-342 s

- Hijnen, W.A.M., Beerendonk, E.F., Medema, G.J., 2006: Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water; a review, *Wat. Res.*, 40 (1): 3-22.
- Hochman, L., 1966: Zum Wachstum des Welses *Silurus glanis* L. *Acta Univ. Agric. Brno*, ser. A 4: 597-615 s.
- Hochman, L. 1967: Importance of growth indexes in estimation sexual maturity in the sheatfish, *Silurus glanis* L. *Zool. Listy*, 16 (2): 183-192 s.
- International Labour Office (ILO) *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety*. 1971, International Labour Office, Geneva.
- Kestemont P., Xu X., Blanchard G., Melárd CH., Brun-Bellut J., and Fontaine P., (2004): Feeding and nutrition in european percid fishes- and review.
- Kestemont P., Vandeloise E., Melárd C., Fointaine P., and Brown P., (2001): Growth and nutritional status of Euroasian perch (*Perca fluviatilis*) feed graded levels of dietary lipids with or without addend ethoxyguin, *Akvaculture* 203, s. 85 – 99.
- Klimša, P., 2008: Účinnost chloru ve vodě v závislosti na pH <http://bazenyeshop.cz/bazeny/5-Navody-tipy-rady/9-Zpusoby-dezinfekce-vody>
- Kolářová, J., Velíšek, J., 2012. Stanovení a vyhodnocení biochemického profilu krve ryb. Edice Metodik, VÚRH FROV JU Vodňany, č.135, 54s.
- Kolářová, J., Zusková, E., Steinbach, Ch., Velíšek, J., Praktické návody k provádění vyšetřovacích a léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb, 2016. Vydala JČU v Českých Budějovicích, FROV Vodňany, Edice metodik č.166, s 40-49
- Kostomarov, B., 1958. Rybářství. Československá akademie zemědělských věd, Praha, 356.
- Kouřil, J., Mareš, J., Pokorný, J., Adámek, Z., Randák, T., Kolářová, J., Palíková, M., 2008. Chov lososovitých ryb a síhů. VÚRH JU Vodňany, Vodňany, s. 19 – 21.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Stejskal, V., 2013, Recirkulační akvakulturní systémy pro chov ryb, FROV JČU V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, Edice metodik 85
- Kouřil, J., Drozd. B., Prokešová, M., Stejskal, V., 2013, Intenzivní chov keříčkovce jihoafrického – Sumečka afrického (*Clarias gariepinus*), Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, FROV, Edice metodik č. 138, 7-18 s.
- Król J., Flisiak W., Urbanowicz P., Ulikowski D. 2014. Growth, cannibalism, and survival relations in larvae of European catfish, *Silurus glanis* (*Actinopterygii: Siluriformes: Siluridae*) attempts to mitigate sibling cannibalism. *Acta Ichthyol. Piscat.* 44 (3): 191–199.
- Lhotský, O., 2004, Chov sumce a lína v rybnících. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Edice metodik č 74.
- Liltved, H., 2003, Disinfection of water in aquaculture: Factors Influencing the physical and chemical inactivation of microorganisms, JČU A VURH VE VODŇANECH, s. 2-12

- Linhart O., Štěch L., Švarc J., Rodina M., Audebert J.P., Grecu J., Billard R. 2002. The culture of the European catfish, *Silurus glanis*, in the Czech Republic and in France. *Aquatic Living Resources* 15 (2): 139–144.
- Lushchak, V. I., Bagnyukova, T. V., Husak, V. V., Luzhna, L. I., Lushchak, O. V., Storey, K. B., 2005. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 37: 1670–1680.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J., 1992. *Ryby v našich vodách*. 2. vydání. Nakladatelství ČSAV Academia, Praha, 248.
- Mareš, J., Burleová, J., 1983. *Rybářská technologie II*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství v Praze, 256.
- Mareš, J., Wognarová, S., Jirásek, J., 2005. Odchov plůdku sumce velkého. *Bulletin VÚRH Vodňany* 41 (3): 114-121.
- Mareš, J., 2007: [http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni\\_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok\\_prednasky/Mare%C5%A1/Odchov\\_ranych\\_stadii.pdf](http://www.vurh.jcu.cz/files/celozivotni_vzdelavani/kombinovane%20studium%20rybarstvi/2blok_prednasky/Mare%C5%A1/Odchov_ranych_stadii.pdf).
- Marklund, S., Marklund, G., 1974. Involvement of superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47:469–474.
- Martoň, J., 1984: Získavanie, úprava, čistenie a ochrana vôd. *Alfa*, Bratislava, str. 316-317, 319-320, 321, 63-562-84
- Musil, J., Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících, *Edice metodik (Technologická řada) FROV JU Vodňany*, č. 76: 8-14.
- Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Skripta VFU Brno*, 155s
- Philipsen, A., Excellence fish: production of pikeperch in recirculating systém. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N., (EDS), *Proceeding of percid fish culture from research to production*, Universitaires de Namur, Belgium, 67 s.
- Podubský, V., Štědranský, E., 1967. *Pstruhařství a umělý chov ryb*. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 250.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Šrámek, V., Dvořák, J., 1998: *Pstruhařství*. 2. vydání, INFORMATORIUM, Praha
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V., 2003: *Pstruhařství*. Informatorium, Praha, str. 64-65. ISBN 80-7333-022-9
- Reiser, F., Kubů, F., Vostradovský, J., 1983. *Rybářství - součást zemědělské výroby*, Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, SZN Praha, 52-54.

- Tesch, F.W., 1959. Die Zanderlaichverhältnisse (*Lucioperca lucioperca* L.) auf Grund von Laichnestkontrollen im Müggelsee. Zeitschrift für Fischerei VIII (N.F.) 587–596 (in German).
- Timonns, M., B., Ebeling, J., M., Wheaton, F., W., Summerfelt, S., T., Vinci, B., J., 2005, Recirculating aquaculture systems (second edition). Cayuga Aqua Ventures, USA
- Policar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S.M.H., Kouřil, J., 2009. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany 89, 51 s.
- Policar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V., 2011a. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), FROV JU Vodňany, 110, 46 s.
- Policar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S. M. H., Kouřil, J., 2011b. Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis*) používaný k masové produkci embryí. Edice Metodik (Technologická řada), VÚRH JU Vodňany, 34 s. 50
- Policar, T., Stejskal, V., Křišťan, J., Podhorec, P., Švinger, V., Bláha, M., 2013. The effect of fish size and density on the weaning success in pond-cultured pikeperch (*Sander lucioperca* L.) juveniles. Aquaculture International
- Policar, T., Blecha, M., Křišťan, J., 2014. Masový poloumělý výtěr candáta obecného (*Sander lucioperca* L.) s použitím recirkulačního akvakulturního systému (RAS). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, FROV, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, 4 – 6.
- Pospíšil, O., 1998. Svět ryb, Ottovo nakladatelství, Praha, 141.
- Seydlová, R., Seydl, M., 1997. Vztah cen sanačních prostředků k nákladům na výrobu mléka. č. 6, s. 40
- Sharrer, M.J., Summerfelt, S.T., 2007: Ozonation followed by ultraviolet irradiation provides effective bacteria inactivation in a freshwater recirculating system. Aquacultural Engineering, 37, 180 - 191.
- Sharrer, M.J., Summerfelt, S.T., Bullock, G.L., Gleason, L.E., Taeuber, J., 2005: Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. Aquacultural Engineering, 33, 135–149.
- Schlumberger, O., Proteau, J.P., 1996. Reproduction of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. Journal of Applied Ichthyology 12: 149–152.
- Schram, E., 2008. Production costs of perch and pikeperch juveniles. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (eds.), Proceeding of Percid Fish Culture From Research to Production, Universitaires de Namur, 75–79.
- Stejskal, V., Policar, T., Bláha, M., Křišťan, J., 2010. Produkce tržního okouna říčního (*Perca*

- fluviatilis*) kombinací rybníčního a intenzivního chovu. Edice Metodik (Technologická řada), VÚRH JU Vodňany, 34 s.
- Stokinger, H.E., 1965, Ozone toxicology. Arch Environ Health., str. 10, 719-731.
- Stokinger, H.E., Wagner, W.D., Dobrogorski, O.J., 1957: Ozone toxicity studies III. Chronic injury to lungs of animals following exposure at a low level. Arch Ind Health., st. 29, 514-522.
- Stráňai, I., 2000. Chov ryb. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 195.
- Summerfelt, S.T., Hankins, J.A., Weber, A.W., Durant, M.D., 1997: Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system. II. Effects on microscreen filtration and water quality. Aquaculture, 158, 57–67.
- Summerfelt, S.T., Wilton, G., Roberts, D., Rimmer, T., Fonkalsrud, K., 2004. Developments in recirculating systems for Arctic char culture in North America. Aquacultural Engineering, 30, 31-71.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Tsukuda, S.M., Gearheart, M., 2008: Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. Aquacultural Engineering, 40, 17–27.
- Svobodová, Z., Gelnarová, J., Justýn, J., Krupauer, V., Máchová, J., Simanov, L., Valentová, V., Vykusová, B., Wohlgemuth, E., 1987. Toxikologie vodních živočichů. Vydavatelství MZVŽ a CSR, Praha, 231 s
- Svobodová, P., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb., 1997. Informatorium. Praha. 36- 45s
- Takashima, F., Hibiya, T., 1995. An atlas of fish histology : normal and pathological features. Tokyo Stuttgart ; New York: Kodansha Ltd. ; Gustav Fischer distributor
- Timonns, M., B., Ebeling, J., M., Wheaton, F., W., Summerfelt, S., T., Vinci, B., J., 2005: Recirculating aquaculture systems (second edition). Cayuga Aqua Ventures, USA Wilson R. P.,(Ed.) (1991) Handbook of Nutrient Requirements of Finfish CRC Press, London, UK, 1991, S. 196.
- Wilson, J., Olegsby, A., Housby, T., Millman, M., Gathercole, P., 1999. The complete Book of Fishing, Nakladatelství Vašut, Tottpan Čína, 124, 125.
- Zakes, Z., 1999. The effect of body size and water temperature on the results of intensit rearing of pike-perch, *Sander lucioperca* L. fry under controlled conditions. Archives of Polish Fisheries 7: 187-199.
- Zakęs, Z., 2003. Produkce candáta, *Sander lucioperca* (L.), v recirkulačních systémech. Bulletin VÚRH Vodňany 39.
- Zakes, Z., Szczepkowski, M., 2004. Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) – Aquaculture International, 12: 11-18. Zakes, Z., 2007. Out-of- season

- spawning of cultured pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture Research* 38: 1419-1427.
- Zakes, Z., 2009. Sandacz chór i hodila. Poradnikhodowcy, IRS, Olsztyn, Poland, 203.
- Zienert, S., Heidrich, S., 2005. Aufzucht von Zandern in der Aquakultur. *Schriften des Instituts für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow* 18: 1-60.
- Žáček, L., 1981: Chemické a technologické procesy úpravy vody. *Nakladatelství technické literatury, Praha*, str. 187-191, 04-635-81

## Zdroje online

- Cultured Aquatic Species Information. (online). FAO © 2015. [cit. 2017-3-18]. Dostupné z <[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander\\_lucioperca/en#tcNA00EA](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander_lucioperca/en#tcNA00EA)>
- Informační web prodejce asio.cz. (online). [cit. 2018-3-18]. Dostupné z <<http://www.asio.cz/cz/161.vsechno-co-jste-kdy-chteli-vedet-o-ozonu-a-uv-ale-bali-jste-se-zeptat>>
- Odborný text. (online). [cit. 2017-3-8]. Dostupné z <[https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/vodnany\\_miroslav\\_kasparu\\_201509.pdf](https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/vodnany_miroslav_kasparu_201509.pdf)>
- Informační portál SVS ČR. (online). [cit. 2016-3-17]. Dostupné z <http://www.svscr.cz/wp-content/files/dokumenty-a-publikace/Methodika-kontroly-zdravi-zvirat-a-narizene-vakcinace-na-rok-2017.pdf>
- Informační portál wikipedia.org. [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Life\\_cycle\\_of\\_Ichthyophthirius\\_multifiliis.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Life_cycle_of_Ichthyophthirius_multifiliis.jpg)>
- Informační portál zooclub.ru [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <<https://zooclub.ru/rybki/bolezni-i-lecheniye/kakimi-boleznyami-boleyut-akvariumnye-rybki.shtml>>
- Informační portál wikipedia.org. [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <[https://cs.wikipedia.org/wiki/Kožovec\\_rybí](https://cs.wikipedia.org/wiki/Kožovec_rybí)>
- Informační portál wikipedia.org. [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <[https://en.wikipedia.org/wiki/Chilodonella\\_uncinata](https://en.wikipedia.org/wiki/Chilodonella_uncinata)>
- Informační portál fishpathogens.net [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <<https://fishpathogens.net/pathogen/trichodina>>
- Informační portál www.koivijvervanandel.nl [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <[http://www.koivijvervanandel.nl/koi-ziekten/costia-\(ichthyobodo-necator\)](http://www.koivijvervanandel.nl/koi-ziekten/costia-(ichthyobodo-necator))>
- Informační portál <http://protist.i.hosei.ac> [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <<http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Eumycota/Saprolegnia/index.html>>
- Informační portál www.researchgate.net [cit. 2018-1-18]. Dostupné z <[https://figure/232755584\\_Photos-of-injuries-in-trout-under-photoperiod-A-and-B-motes-of-Saprolegnia-sp-C](https://figure/232755584_Photos-of-injuries-in-trout-under-photoperiod-A-and-B-motes-of-Saprolegnia-sp-C)>

## Abstrakt

Tato práce se zabývá ozonizací vody, jakožto jednou z možných metod zvýšení a udržení kvality odchovného prostředí intenzivních chovů ryb typu RAS (recirkulační akvakulturní systém). Při tomto experimentu byl kladen důraz především na zjištění vlivů ozonu na zdravotní stav ryb, a také na míru ovlivnění a činnost celého recirkulačního systému. Použity byly dva recirkulační systémy, přičemž do jednoho byl aplikován ozon a druhý sloužil jako kontrola. Experimentální druhy ryb, candát obecný (*Sander luciperca*) a sumec velký (*Silurus glanis*), byly zvoleny jako referenční, protože právě tyto dva druhy patří dnes k perspektivním rybám pro chov v RAS. V systému s ozonizací vody byly otestovány dva odlišné způsoby aplikace ozonu, a to periodický a kontinuální. V pravidelných intervalech byly odebrány vzorky ryb pro podrobnou analýzu jejich zdravotního stavu, a také byl detailně sledován vliv ozonizace na chemické parametry vody. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že ozonizace vody v uskutečněném pokusu ovlivnila například míru přežití odchovávaných candátů, a to tak, že candáti z ozonizované vody vykazovali přežití 77,0 %, zatímco candáti z neozonizovaného systému vykazovali kumulativní přežití 67,2 %. Odchovávaní sumci vykazovali přežití na úrovni 93,1 % při ozonizaci vody a bez ozonizace vody 91,5 %. Výraznější rozdíl byl zjištěn při podrobné chemické analýze vody z obou systémů. Ozonizovaná voda vykazovala vždy přijatelnější chemické parametry, přičemž největší rozdíl byl pozorován při stanovení  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$ , kdy byly zjištěny následující hodnoty:  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$  v systému bez ozonu =  $10,7 \pm 1,6 \text{ mg.l}^{-1}$ ;  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$  v systému s ozonem =  $6,4 \pm 1,2 \text{ mg.l}^{-1}$ . Podobný trend byl zjištěn i při stanovení nerozpuštěných látek (zákal vody), kde se také ukázalo, že ozonizace vody významně snižuje množství nerozpuštěných látek. Voda z odchovné nádrže bez ozonu obsahovala  $8,17 \pm 6,2 \text{ mg.l}^{-1}$  a v systému s ozonem pouze  $4,3 \pm 2,8 \text{ mg.l}^{-1}$ . Při stanovování dalších ukazatelů jako je například rozsah infekce způsobená kožovcem rybím (*Ichthyophthirius multifiliis*), nebo množství bakterií vyskytujících se v odchovné vodě nebyly tyto ozonizací vody zpravidla významně ovlivněny. Hlavním zjištěním této práce je, že způsob ozonizace vody v podmínkách intenzivního chovu RAS, testovaný v tomto experimentu měl pozitivní přínos především na chemické vlastnosti vody, avšak nedokázal spolehlivě eliminovat rybí patogeny.

**Klíčová slova:** desinfekce vody, patogeny, kožovec rybí, zákal vody, candát obecný.

## Abstract

Aim of this thesis was to use the ozonisation as a disinfection method for improving of water quality in the intensive fish farms using RAS (recirculating aquaculture system). The main assessed parameter was effect of ozone treatment on fish health and RAS functions and features. Two RAS were used in this study – one with use of ozone treatment, one without ozone treatment (control system). There were cultured two different fish species in these two RAS - pikeperch (*Sander lucioperca*) and European catfish (*Silurus glanis*). The main reason for use of these two species is that they are perspective species for intensive aquaculture. In the RAS with ozone treatment, two different methods of ozone application were tested - periodical and continual application. The effect of ozone treatment on fish health and conditions was controlled regularly. Ozone treatment had positively affected the survival of both cultured species (pikeperch survival: with ozone = 77.0 % and without ozone = 67.2 %; European catfish: with ozone = 93.1 % and without ozone = 91.5 %). Ozone treatment also positively affected the water chemistry. The greatest difference was observed in  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$ : with ozone =  $6.4 \pm 1.2 \text{ mg.l}^{-1}$ ; without ozone =  $10.7 \pm 1.6 \text{ mg.l}^{-1}$ . The same features were observed in suspended solids: with ozone =  $4.3 \pm 2.8 \text{ mg.l}^{-1}$ ; without ozone =  $8.17 \pm 6.2 \text{ mg.l}^{-1}$ . Appearance of *Ichthyophthirius multifiliis* and bacterial infection were not affected by ozone treatment. The main result of this thesis and this design of experiment is that ozone treatment had a positive impact on water chemistry in observed RAS and it, however, didn't kill 100% of the fish pathogens.

**Key words:** water disinfection, pathogens, *Ichthyophthirius multifiliis*, pikeperch, turbidity