

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**POUŽITÍ PERSTERILU® V PRAXI K PREVENCI MYKÓZ JIKER
A KOUPELE PLŮDKU JESETEROVITÝCH RYB
V POROVNÁNÍ S UŽÍVANÝMI PŘÍPRAVKY**

Autor: Oldřich Hudec

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

Konzultant bakalářské práce: Mgr. Petra Beránková

Studijní program a obor: Zootechnika/Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník:2012/2013

České Budějovice, 2013

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum: 1. 5. 2013

.....

vlastnoruční podpis

Děkuji svému vedoucímu Ing. Davidu Gelovi, Ph.D., za metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady a cenné připomínky při vypracování této bakalářské práce, dále za zapůjčení aparátů a příslušenství na Genetickém centru FROV JU ve Vodňanech.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Oldřich HUDEC**
Osobní číslo: **V11B045P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Použití Persterilu© v praxi k prevenci mykóz jiker a koupele plůdku jeseterovitých ryb v porovnání s užívanými přípravky**
Zadávající katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Cílem práce je porovnat účinnost a vhodnost užití přípravku Persteril© v provozních podmínkách rybí líhně pro prevenci a léčbu vývojových stádií jeseterovitých ryb a rovněž účinnost porovnat s dosud užívanými prostředky.

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

Termín předložení rešerše v rozsahu 15-20 stran vedoucímu bakalářské práce: 30.04.2012

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

Termín provedení experimentů: duben - květen 2012

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

4. Odevzdání bakalářské práce do 30.04.2013.

Rozsah grafických prací: **podle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **cca 35 stran textu**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1997. Nemoci sladkovodních ryb. Informatorium. Praha
Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (Acipenser). Edice metodik VÚRH JU, Vodňany, 78, 1-24.
Kouřil, J. a kol., 1984. Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice Metodik VÚRH
Kouřil, J., Hamáčková, J., 1998. Použití Jodisolu k prevenci mykóz jiker kaprovitých a některých dalších druhů ryb. Edice Metodik VÚRH
Liltved, H., 2003. Dezinfekce vody v akvakultuře. Edice metodik, 71: 1-12.
Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, S., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. Informatorium Praha. 264 s.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. David Gela, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: **2. prosince 2011**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2013**

U.2. 
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Zátiší 728/II
389 25 Vodňany (2)


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 3. února 2012

Obsah

1. Úvod a cíl práce	8
2. Literární přehled.....	10
2.1. Legislativní předpisy	10
2.2. Preventivní a léčebné koupele jiker	10
2.3. Obecné zásady při provádění dezinfekcí.....	10
2.4. Nemoci jiker.....	11
2.5. Přehled přípravků používané k léčebným koupelím jiker.....	12
2.5.1. Malachitová zeleň	13
2.5.2. Jodisol	13
2.5.3. ToruMin (TetraAqua).....	14
2.5.4. Acriflavin (trypaflavin)	15
2.5.5. TeraP	15
2.5.6. Aquahum TM	16
2.5.7. Persteril [®] 36	16
2.5.7.1. Charakteristika KPO	17
2.5.7.2. Mechanismus účinku.....	18
2.5.8. Využití KPO v rybářské praxi.....	18
2.5.8.1. Koupele jiker v KPO	18
2.6. Desinfekce vody.....	19
2.6.1. Typy dezinfekcí a úpravy vody v akvakultuře	19
2.6.2. UV záření	19
2.6.3. Ozonizace.....	20
2.6.4. Chlorace	21
3. Materiál a metodika.....	22
4. Výsledky a diskuze	26
4.1. Kontrola	26
4.2. ToruMin	28
4.3. Acriflavin	29
4.4. TeraP	30
4.5. Aquahum TM	31
4.6. Ředěný roztok Persterilu [®] 36 (120 ml)	33
4.7. Ředěný roztok Persterilu [®] 36 (240 ml)	34
4.8. Ředěný roztok Persterilu [®] 36 (360 ml)	35
5. Závěr.....	37
6. Přehled použité literatury	39

7. Seznam zkratek	42
8. Seznam tabulek, obrázků, grafů a příloh	43
9. Přílohy	45
10. Abstrakt	49
11. Abstract.....	50

1. Úvod a cíl práce

Umělý výtěr ryb a následná inkubace jiker se v produkční síti neobejdou bez desinfekčních prostředků, které jsou součástí každoročního produkčního cyklu na rybí líhni. Pro úspěšnou inkubaci oplozených jiker je důležité v líhni zajistit řadu technologických postupů a parametrů. Nežli dojde k samotnému výtěru, je nutno dodržet určitá kritéria, která jsou běžná v rybářské praxi. Počínaje výběrem kvalitních generačních ryb a správným odlovením v co nejkratším časovém úseku, šetrné manipulaci a přípravou ryb k vlastnímu výtěru, jeho provedení s následným odlepkováním jiker a umístěním do inkubačních lahví.

Mezi hlavní patogenní vlivy, které mohou negativně vstupovat do jednotlivých fází inkubace, jsou plísně. Nejčastěji se lze setkat s rody *Saprolegnia* a *Achlya*. Většina rybích líhní bývá napájena povrchovou vodou, která může být kontaminována zárodky těchto plísní a dalších patogenních mikroorganismů. Částečně mohou být omezeny použitím zdroje kvalitní podzemní vody, popř. vybavením líhně úpravnou vody (účinný mechanický filtr a zařízení pro desinfekci vody). K rozvoji choroboplodných zárodků v průběhu inkubace jiker napomáhá stav, kdy jsou do inkubačních přístrojů nasazovány společně s oplozenými jikry i neoplozené nebo dojde v průběhu jejich vývoje k přerušení a k jejich odumření. Takové jikry jsou substrátem pro rozvoj plísní (Kouřil a Hamáčková, 1998).

Z tohoto důvodu je velice důležité preventivní použití vhodných desinfekčních prostředků v průběhu inkubace, které napomohou zvýšit procento přežití jiker do stádia kulení.

Cílem bakalářské práce je porovnání účinku roztoku kyseliny peroctové vůči v rybářské praxi běžně užívaným prostředkům k desinfekci odchovného prostředí při inkubaci oplozených jiker chrupavčitých ryb.

Kyselina peroctová má pro své antimikrobiální účinky široké spektrum využití v preventivní a terapeutické oblasti. Jedná se o velice účinnou látku, která se oproti jiným antiparazitikům při správném dávkování a koncentraci neukládá v těle ryb a snadno se uvolňuje z vodního prostředí. Nevyznačuje se ekologickou nebezpečností jako například malachitová zeleň. Což je důležité i v případě odtékající vody z líhně.

V experimentální části je zhodnocena účinnost přípravků používaných běžně v rybářské praxi a porovnání s Persterilem[®]36 (obsah kyseliny peroctové 35%) k prevenci mykóz jiker a koupele plůdku jeseterovitých ryb.

2. Literární přehled

2.1. Legislativní předpisy

Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů definuje podmínky, které musí kvalifikovaná osoba dodržet, při provádění desinfekce, desinsekci a deratizaci (DDD).

Hlavní podmínky:

- dovršení věku 18 let,
- absolvování odborného kurzu, pro práci s toxickými a vysoce toxickými látkami a chemickými přípravky, nebo jinak získané odborné znalosti v rozsahu upraveném prováděcím právním předpisem,
- podrobení se před komisí úspěšné zkoušce odborné způsobilosti a osvědčení o odborné způsobilosti

Důležitá je také znalost zákona 166/1999 Sb. o veterinární péči a o změně souvisejících zákonů (veterinární zákon).

2.2. Preventivní a léčebné koupele jiker

Při intenzivním odchovu raných stadií plůdku ryb v kontrolovaném prostředí (inkubační lahve, žlaby, nádrže) napájené povrchovou nebo oteplenou vodou se zvyšuje nebezpečí onemocnění (Kouřil a kol., 1984).

K léčení plísňových a bakteriálních nemocí jiker se v rybářské praxi donedávna používaly koupele především v roztocích malachitové zeleně a ve formaldehydu. Místo chemoterapeutik se osvědčilo při inkubaci jiker používání kvalitní, nezávadné podzemní vody bez zárodků plísní aj. a dezinfekce vody pomocí UV lamp nebo pomocí ozonu (Svobodová a kol., 2007).

2.3. Obecné zásady při provádění dezinfekcí

V produkčních chovech se zdravotní stav jiker sleduje 2krát denně v líhních při odchovu raných stadií plůdku. Zařazení správných dezinfekčních postupů a jejich dodržování v provozním rybářství i akvaristice patří k základním předpokladům nízkých ztrát při líhnutí jiker a následnému odchovu plůdku. Tvoří nezbytnou součást

všech výrobních technologií (Svobodová a kol., 2007). Dezinfekci lze definovat jako záměrné ničení choroboplodných mikroorganismů pomocí fyzikálně chemických metod.

Nutností je také dodržet přesný a konkrétně daný technologický postup. Provést kompletní asanace objektu a líhní. Základem je vyskladnit veškeré druhy ryb z daného prostředí a odstranit všechny organické zbytky, kolem celého areálu před započítím dezinfekce, aby nemohlo dojít k další možné kontaminaci již dezinfikovaných prostor. Provádí se také mechanická očista používaných zařízení tak, aby byly odstraněny všechny usazeniny z předešlých odchovů a především uvnitř líhní provést očistu skleněných, plastových zařízení a manipulačních nádrží. Součástí je nezbytný úklid a asanace i okolí budov. Důležité je vše důkladně naplánovat, abychom nenarušili průběh výtěrové sezóny.

Asanační opatření je možné rozdělit podle účelu na preventivní, které se provádí po každém výtěru. Začíná důkladnou desinfekcí nádrží, inkubačních lahví a dalších předmětů používaných při výtěru. Důležité je nezapomenout na omytí podlah a stěn líhně a na ohniskovou, která je buď průběžná, nebo závěrečná, která se provádí v místě nákazy podle stanovených pokynů pracovníků veterinární služby (Svobodová a kol., 2007).

2.4. Nemoci jiker

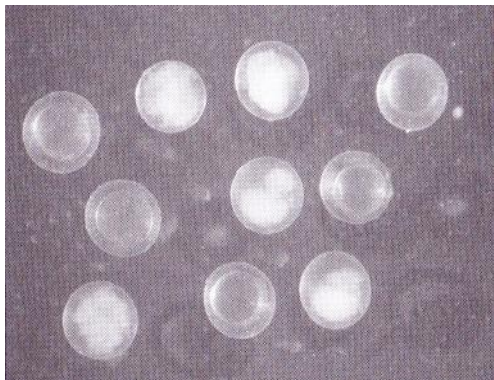
Nedostatečnou hygienou na líhních, nekvalitním zdrojem vody a nedostatečná odbornost personálu může vést k zavlečení nežádoucích chorob a nemocí jiker, které mají za následek snížení prosperity v chovu ryb. Mezi nemoci, které postihují jikry, patří například praskání jiker, odumírání a měknutí, které vznikají mechanickým poškozením a sekundárně dojde k zaplísnění i zdravých jiker.

Na zaplísnění jiker se podílí především plísně rodu *Achlya* a *Saprolegnia*, které se drží na povrchu poškozených, neoplozených nebo uhynulých jiker a jsou-li jikry ve shlucích, mohou plísně přerůst na nepoškozené a i na zdravé jikry. Plísně jsou velmi dobře patrné zejména ve vodě, kdy napadené jikry vypadají jako chomáčky šedé vaty (Svobodová a kol., 2007).

K odumírání jiker dochází, pokud jsou jikry nedozrálé, přezrálé nebo neoplozené vlivem nepříznivých vlivů prostředí (deficit kyslíku, znečištění vody). V líhňařských

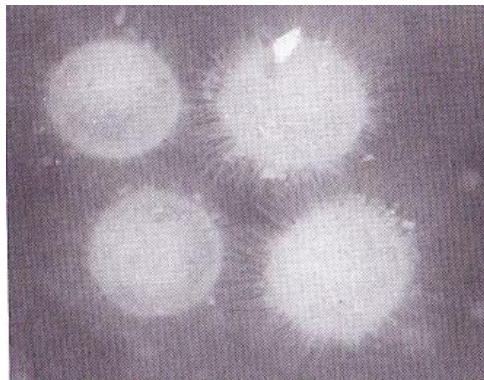
lahvích zjišťujeme během inkubace větší množství jiker bílé barvy. Odumřelé jikry mohou podléhat sekundárnímu zaplísnění.

Obr. č. 1: Odumřelé a živé jikry



Zdroj: Svobodová (2007)

Obr. č. 2: Plíseň na jikrách



Zdroj: Svobodová (2007)

Praskání jiker bývá zapříčiněno přitékající znečištěnou vodou, jejíž částice poškozují jikrnou blánu mechanicky. V aparátech nebo lahvích můžeme pozorovat jikry s bělavými skvrnami, které později praskají. Po prasknutí jikry vyhřezne její obsah do vodního prostředí (Svobodová a kol., 2007).

Terapie a prevence spočívá ve výběru vhodných generačních ryb, dodržování správných technologických postupů při umělém výtěru, filtraci přítokové vody a samozřejmě i v použití přípravků, jako jsou jodotermální preparáty, acriflavin, soli a u nepotravinových ryb je možná i koupel v malachitové zeleni.

2.5. Přehled přípravků používané k léčebným koupelím jiker

Některé druhy přípravků používaných v rybářství při koupelích mohou u člověka působit velice negativně. Může dojít k poleptání pokožky nebo očí. Z tohoto důvodu je velice nutné používat osobní ochranné pomůcky (gumové rukavice, protichemické brýle či štít z plexiskla. U přípravku, jako je KPO, která je charakterizována silným štiplavým výparem, je z hlediska bezpečnosti doporučeno pracovat v digestoři.

Jiné látky jsou škodlivé pro lidský organismus z hlediska karcinogenních účinků. Je nutné zamezit možnost jejich přímého styku s lidským tělem i v ředěných koncentracích (Kouřil a spol., 1984).

Zbytky kyselin a oplachové vody nesmí být vypouštěny do blízkosti vodních zdrojů, půdy a veřejných kanalizací. Vypouštění vod obsahující kyselinu do veřejné

kanalizace a vodotečí je přípustné až po její neutralizaci za přesně daných podmínek vodohospodářských orgánů (Zusková a kol., 2011).

Dezinfekční preparáty musí v konečné fázi zaručit stoprocentní efekt. Součástí je přijatelná pořizovací cena a velmi důležitý charakter účinné látky. Při správném účinku prostředků, je nutno zvážit více hledisek – minimální teplotu nutnou pro účinnost, používanou koncentraci a charakter účinných látek (Seydlová a Seydl, 1997).

2.5.1. Malachitová zeleň

Její použití v rybářství je v současnosti velice problematické. Pro účinnou látku není stanoven maximální reziduální limit („dále jen MRL“), a proto je přísně zakázáno její použití u potravinových ryb. Malachitová zeleň se používala ve formě krátkodobých, ale také při dlouhodobých koupelí, a to především při nálezu *Ichthyophthirius multifiliis*, *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Chilodonella* a při povrchovém zaplísnění.

Mechanismus působení spočívá v zablokování dýchacích enzymů parazitů a bakterií. Fungicidní účinky malachitové zeleně jsou známy od poloviny třicátých let. Během šedesátých let se ukázala jako nejúčinnější prostředek proti jednobuněčným ektoparazitům. Význam vzrostl, když se prokázala účinnost na plíseň *Saprolegnia spp.* u jiker (Svobodová a kol., 2007).

Provádí se i kombinovaná koupel s formaldehydem, aby celková koncentrace koupelové lázně obsahovala v 1 litru vody 0,25 mg malachitové zeleně a 0,125 ml 36 - 38 % vodného roztoku formaldehydu. Délka trvání koupele je 2 až 6 hodin při zajištěném provzdušňování. Svobodová (2007) dále uvádí, že pro kombinovanou 2 hodinovou koupel se doporučuje ji opakovat 2 krát až 3 krát v průběhu 1 týdne.

2.5.2. Jodisol

Jodisol je kapalná látka temně hnědé barvy. Podle Čs. lékopisu obsahuje tento jododetergentní preparát účinnou látku jodoformin. Přípravek se používá formou krátkodobé koupele jiker přímo v inkubačních lahvích nebo aparátech. Zastaví se nebo velmi silně omezí přítok vody do inkubačních lahví a ihned poté se do inkubační lahve aplikuje určené množství Jodisolu.

Vlastní aplikace se provádí pomocí pipety s balónekem o přesně definované koncentraci. Ihned poté se pomocí krouživého míchadla provede šetrné zamíchání

obsahu inkubační lahve. Od tohoto okamžiku se začne měřit čas a opakuje se míchání. Důležitým faktorem je i teplota, u které všeobecně platí, že při snižující teplotě se používá vyšší koncentrace přípravku a naopak při vyšších teplotách nižší koncentrace přípravku. Po dosažení určené délky koupele se otevře přítok vody do inkubačních lahví tak, aby intenzivní přítok vody co nejrychleji vyplavil hnědě zbarvený roztok použitého přípravku, ale nesmí dojít k úniku inkubovaných jiker s odtékající vodou (Kouřil a Hamáčková, 1998).

Všeobecně platí, že v rámci doporučeného rozpětí pro jikry jednotlivých druhů se při nižších teplotách volí spíše vyšší koncentrace a naopak při vyšších teplotách nižší koncentrace přípravku. Při práci s preparátem je nutno pracovat tak, aby nedošlo k potřísnění rukou a jiných částí těla pracovníků. U osob alergických na jód, používat při aplikaci ochranné pomůcky (Kouřil a Hamáčková, 1998).

Obr. č. 3: Přehled dezinfekčních prostředků



Zdroj: Autor

2.5.3. ToruMin (TetraAqua)

Je vyroben z výtažků přírodní rašeliny, jejichž složkou jsou třísloviny, humusové kyseliny a regulátory růstu. Prostředek zlepšuje kvalitu vody, chování ryb a v neposlední řadě díky makro a mikroelementům prvků napomáhají růstu rostlin. Výrobce dále uvádí, že při pravidelném používání se zabraňuje růstu řas; voda je

zabarvená do hněda, čistá, která omezuje průnik světla. Umožňuje tedy aktivní přeměnu akvarijní vody ve vodu tropickou, blízkou přirozené vodě.

Výrobce ToruMinu je firma Tetra Aqua, který na informačním štítku uvádí koncentraci 5 ml na 10 l v případě potřeby po 2 týdnech 2,5 ml na 10 l vody. Přípravek je označen jako dráždivý.

2.5.4. Acriflavin (trypaflavin)

Jedná se o protiplísňový přípravek velmi vhodný k ošetření jiker. K potlačování protozoárních parazitů a povrchových bakteriálních onemocnění ryb. V akvaristice používán především proti plísním rodu *Saprolegnia* a *Achlya*. Bývá také ve formě hnědočerveného krystalického prášku nebo jako hnědočervená olejová kapalina. Používá se k potlačení protozoárních parazitů a bakterií (Svobodová a kol., 2007). Acriflavin působí silně bakteriostaticky, jednak snižuje sekreci ran, sliznic a proniká hluboko do tkání, ale v doporučených koncentracích je nepoškozuje.

Uplatňují se ve formě dlouhodobých koupelí ($10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ po dobu 10 hodin), ale v rybářské praxi se z důvodu dlouhodobé expozice a finanční náročnosti zatím významně neuplatnily. Léčebné koncentrace acriflavinu jsou několikanásobně nižší v porovnání s letálními koncentracemi pro ryby. Jeho použití může u potravinových ryb doporučit veterinární lékař na vlastní odpovědnost, jelikož není stanoven maximální limit pro rezidua.

Výrobce je firma DAJANA, která udává dávkování $0,1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ vody. Výrobce dále uvádí, že je nutné jeho použití sladit s pH. Potlačuje infekce typu *Costia sp.*, *Chilodonella sp.* a infekce způsobené plísněmi.

2.5.5. TeraP

Tento prostředek slouží k dezinfekci proti zaplísnění jiker a plůdku. Výrobce je firma Aquar, která se zabývá problematikou v chovech akvarijních ryb a působí na trhu od roku 1990. Výrobce uvádí přesnou aplikaci prostředku do vodního prostředí a účinné koncentrace. Hlavní složky výrobku jsou acriflavin a metylenová modř. Při koupeli jiker se používá dávkování $0,025 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ vody. Nejde o krátkodobou koupel, jikry se ponechávají v desinfekčním roztoku po celou dobu vývoje.

Postup při dávkování do určitého objemu vody. Přípravek je důležité odměřit a dávkovat na hladinu. Po aplikaci desinfekčního prostředku je nutno v nádrži sledovat

obsah dusitanů denně a amoniak 2 krát denně. Pokud dojde ke zvýšení koncentrace, je důležité vyměnit třetinu vody v nádrži.

2.5.6. Aquahum™

Jedná se o nejčistší práškový lignosulfonát s nejvyšším obsahem vláken ligninu, který je zpracován na 20 % koncentrát huminových látek. Během procesu výroby jsou stopové prvky přítomné ve výchozí surovině chelatizovány a tím i zpřístupněny pro další využití v buňce.

Hlavní účinky se dají shrnout do následujících tří bodů:

- protiplísňový efekt (u jiker a váčkového plůdku),
- antistresový efekt, zlepšení příjmu potravy (u starších věkových kategorií),
- výrazné prodloužení doby života živých artemií i ve sladké vodě a tím zajištění živé potravy pro odchov.

Výrobce je česká firma AMAGRO, která udává dávkování $0,05 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$. Obsahuje již zmíněných 20 % huminových látek a dále stopové množství B, Ca, Co, Cu, Fe, Mo, Mg, Mn, S, Se, Si a Zn. Využití nachází spíše v akvaristice.

2.5.7. Persteril®36

Kyselina peroctová (KPO, z ang. peracetic acid – PAA) se pro své antimikrobiální a germicidní účinky používá již řadu let k desinfekčním účelům. Při správně zvolených koncentracích lze KPO použít i do vodního prostředí s přítomností ryb, kde účinkuje profylakticky a terapeuticky. V současné době může využívání profylaktických metod přispět k omezení aplikace terapeuticky nebezpečnějších látek (antibiotika, antiparazitika), při jejichž aplikaci nakonec často převažují rizika nad přínosy. U KPO byla stanovena hodnota MRL, výsledek nezanechává rezidua v rybách a z vody se postupně uvolňuje, takže nezatěžuje vodní prostředí (Zusková a kol., 2011). Koivunen (2005) uvádí širší využití, například k odstranění patogenních bakterií, virů a parazitárních prvoků i z odpadních vod.

Je vysoce efektivním biocidem a má rozsáhlé aplikační možnosti s přihlédnutím na šetrnost k životnímu prostředí a zároveň má nejširší spektrum dezinfekční účinnosti (tab. č. 1). Je zaregistrován na Ministerstvu zdravotnictví jako biocidní přípravek pod

registračním číslem: REG-3371-10.11.04/32247. Persteril® 36 % splňuje požadavky *Acidum peraceticum* 35 % Českého lékopisu 2002, rovněž je veden v Seznamu dezinfekčních přípravků schválených hlavním hygienikem ČR a splňuje legislativní podmínky EU o ochraně životního prostředí (www.persteril.cz).

Tab. č. 1: Spektrum účinnosti Persterilu®36

A	usmrcení vegetativních forem bakterií a mikroskopických kvasinkových hub
B	virucidní účinek na široké spektrum virů (včetně malých neobalených virů)
C	inaktivace bakteriálních spór
T	usmrcení mykobakterií komplexu <i>M. tuberculosis</i>
M	usmrcení potenciálně patogenních mykobakterií
V	fungicidní účinek na mikroskopické vláknité houby

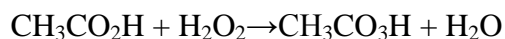
zdroj: www.persteril.cz

Skladuje se v původních obalech při teplotě do 20°C. Sklady musí být dobře větratelné, kryté a požárně zabezpečené. Při manipulaci s koncentrovaným přípravkem je nutné dodržet bezpečnostní pokyny, uvedené na obalu přípravku ve formě R a S vět.

Persteril je vyráběn ve třech základních koncentracích a to jako: 4 %, 15 % a 36 % roztok v baleních od 1 do 200 kg (Zusková a kol., 2011).

2.5.7.1. Charakteristika KPO

Kyselina peroctová je chemická sloučenina ze skupiny organických peroxidů. Je to čirá bezbarvá kapalina. Má silný dráždivý zápach kyseliny octové s hodnotou pH < 2. KPO se dobře míchá s vodou, snadno se odbourává a nezanechává rezidua. KPO je silný oxidant a dezinfekční prostředek, jeho oxidační potenciál je větší, než u chloru nebo oxidu chloričitého. Je komerčně dostupný ve formě kvartérní rovnovážné směsi, obsahující peroxid kyseliny octové (AA), peroxid vodíku, PAA a vodu, jak je uvedeno v následující rovnici (Kitis,2003):



kde

$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ = kyselina octová

$\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ = kyselina peroctová

H_2O_2 = peroxid vodíku.

2.5.7.2. Mechanismus účinku

Kyselina peroctová ničí mikroorganismy dvěma způsoby:

1) Oxidací a následný rozpadem buněčných membrán. Oxidace spočívá v přenosu (OH) skupinových radikálů přes membránu a následné inaktivaci nebo smrti mikroorganismů. Protože je difuze pomalejší než poločas života radikálu, reaguje s jakoukoli oxidovatelnou sloučeninou ve své blízkosti, a to může mít za následek poškození všech typů makromolekul spojených s mikroorganismy například: sacharidy, nukleové kyseliny (mutace), lipidy. To nakonec vede k lýze buňky a smrti mikroorganismu (Zusková a kol., 2011).

2) Druhým způsobem je denaturace a inaktivace mikrobiálních enzymů (Block, 2001). Díky této schopnosti má KPO sporicidní a ovicidní vlastnosti. Velkou výhodou KPO je schopnost neutralizace volných hydroxylových radikálů (Zusková, 2011)

2.5.8. Využití KPO v rybářské praxi

V rybářské praxi se KPO využívá především při dezinfekci, prevenci a terapii. Podle Zusková a kol., (2011) se kyselina peroctová využívá v širokém spektru koncentrací. Při koncentraci 0,001 % má baktericidní účinky, při koncentraci 0,003 % fungicidní a při 0,3 % sporocidní účinky. Citlivost mikroorganismů vůči KPO je následující: bakterie > viry > bakteriální spory > protozoální cysty (Kitis, 2004).

2.5.8.1. Koupele jiker v KPO

KPO se používá ve formě krátkodobé koupele jiker přímo v inkubačních lahvích. Neoplozené jikry, kterou jsou nasazeny společně s oplozenými, postupem času odumírají a jsou vhodným zdrojem pro plísně. Z těchto důvodů je použití antimykotických preparátů pro prevenci a tlumení mykóz zpravidla nutné ve všech případech. Délka působení koncentrace závisí na technologických možnostech odchovny nebo líhně. V průtočných systémech se doporučuje pozastavit přítok vody a vzápětí opatrně nadávkovat do vody. (Zusková a kol., 2011).

2.6. Desinfekce vody

Odchovávané ryby jsou v důsledku vysokých obsádek, manipulačního stresu či snížené kvality vody náchylnější k nemocem. K redukování ekonomických ztrát či negativního působení na rybí obsádky byla vypracována opatření zahrnující aplikace léčiv, vakcinační programy a desinfekce vody v rybích objektech. Důležité je věnovat pozornost i vodě, která opouští produkční síť, kde rovněž hrozí rozšíření rybích patogenů, jež mohou ohrozit okolní chovy či populace ryb ve volných vodách (Liltved, 2003). Běžné parazitární onemocnění se objevila i v recirkulačním systému (dále jen „RAS“), kde může způsobit významné ztráty, pokud se nevyčistí v čas. Při výskytu *I. multifilis* se nejčastěji používá formaldehyd, který má velkou účinnost a nepoškozuje ryby ani biofiltr. Nicméně nedávná studie možných environmentálních dopadů má vést k postupnému opouštění od jeho používání (Pedersen, 2009).

2.6.1. Typy dezinfekcí a úpravy vody v akvakultuře

Metody používané při dezinfekci se vyznačují širokou škálou rozdílů své účinnosti, proto je značně komplikované stanovit jejich přesné mikrobiální inaktivační působení. Podle Atrramadal (2012) úprava vody v RAS může zahrnovat UV záření, ke snížení množství bakterií a ozonizaci, která spíše zlepšuje fyzikálně-chemické vlastnosti kvality vody než její dezinfekci.

2.6.2. UV záření

Dle Liltved (2003) jde o přirozené i umělé UV světlo (o vlnové délce 190 – 400 nm) může poškozovat mikroorganismy ať již přímo či nepřímo měněním nukleových kyselin. Přímé poškození DNA vzniká absorpcí záření a ústí do vytváření fotoproduktů. DNA absorbance je vysoká v C - rozsahu ultrafialového záření (190 – 280 nm). Účinek poškozování DNA C-rozsahem UV je pak využíván v baktericidních lampách.

Mírná energická úroveň UV záření nezanechává žádná toxická rezidua v upravované vodě. I když radiace může měnit chemické sloučeniny, dávky UV, využití k dezinfekci jsou příliš nízké na to, aby generovaly významná množství fotoproduktů. Rozhodující předností UV záření je absence toxických reziduí, relativně nízké náklady, snadná provozuschopnost a údržba. Nevýhodou je nízká účinnost vůči některým patogenním virům (např. u viru IPN). Intenzita působení záření na

mikroorganismy je nejvíce závislá na čistotě vody a síle její vrstvy. Doba působení se stanoví podle rychlosti průtoku vody kolem zdroje UV záření (Kolářová a Svobodová, 2009).

Summerfelt (2002) tvrdí, že nejefektivnější účinnost UV je při vlnové délce 254 nm. Mnoho rybích patogenů bývá při této vlnové délce kompletně zničeno, kromě *Saprolegnia* a IPN virů, které vyžadují velmi vysoký podíl UV záření k inaktivaci.

Nicméně, aktuální podmínky v chovech mohou vyžadovat delší expozici nebo vyšší dávky, protože takové faktory, jako celkový obsah nerozpuštěných látek mohou mít negativní vliv na celkový průběh záření (Sharrer, 2007).

2.6.3. Ozonizace

Ozón je silně reaktivní oxidant a velmi účinný baktericid a viroid. Inaktivace je do značné míry omezena schopností udržet po potřebnou dobu dostatečnou koncentrací reziduálního ozónu. Po aplikaci se ozón rychle rozkládá na kyslík a tím zvyšuje koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě. V akvakultuře je takové kyslíkové obohacení užitečné.

Princip účinky vyvolává změny v membránové struktuře, vedoucí k propouštění bílkovinných a nukleových kyselin a zároveň s oxidací lipidů (Liltved, 2003). Ozón bývá využíván k dezinfekci a zvyšování kvality vody v provozních podmínkách RAS. Využití ozónu v kombinaci s UV zářením spadá do kategorie mezi velice účinné způsoby úpravy vody. Při ozáření vody obsahující rozpuštěný ozón, dochází k tvorbě hydroxylových radikálů a úplnému rozkladu ozónu. OH radikály patří do skupiny silných oxidantů. Jejich působením dojde k velice účinné dezinfekci a oxidaci látek ve vodě až na neškodný oxid uhličitý, vodu a anorganické soli (Liltved, 2003). Ačkoli ozonizace je efektivní možnost léčby v systému akvakultury, ozón je velmi nebezpečný plyn, který může bezprostředně ohrozit život personálu. Stejně tak kritická expozice hrozí i rybám vystaveným vysokým koncentrací ozónu. Proto je důležité stanovit specifické požadavky na výrobní proces, tak aby byly účinné a bezpečné (Summerfelt, 2009).

2.6.4. Chlorace

Kolářová a Svobodová (2009) definuje chloraci, jako způsob dezinfekce vody v akvakultuře víceméně omezena na odpadní vody z chovu, a to z důvodů toxicity volného chloru a jeho oxidačních produktů na ryby. Při chloraci vody přitékající na rybochovnou farmu je obvykle současně zařazena pečlivá dechlorace thiosíranem nebo filtrace aktivním uhlím. Rezidua chloru mohou na své toxické úrovni setrvávat po dlouhé hodiny a je známa i biokumulace vzniklých chlorovaných sloučenin ve vodních organismech. Účinnost dezinfekce chlorem ovlivňují faktory prostředí – teplota, pH, organické sloučeniny, sloučeniny obsahující dusík.

3. Materiál a metodika

Praktická část bakalářské práce probíhala na líně Genetického centra FROV JČU ve Vodňanech.

Jednotlivé části experimentu mohu rozdělit do 3. částí:

1) Kontrolní odlov jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) a následná biopsie gonád. Ověření zralosti ovocytů s následným výtěrem generačních ryb.

2) Krátkodobé koupele oplozených a odlepkovaných jiker v různých preparátech dle pokynů výrobce s následnou inkubací jiker v kolíbkách se vzduchováním a pravidelnou kontrolou kvality vody do stádia kulení embryí.

3) Porovnání a vyhodnocení účinnosti použitých desinfekčních přípravků.

Ad 1) Předvýtěrová příprava a vlastní výtěr generačních ryb byl proveden 26. 4. 2011 dle Metodiky VÚRH JU č. 78 (Gela a kol., 2008). Oplozené jikry několika jikernaček byly odlepkovány suzpenzí jílu a inkubovány v Zugských lahvích v recirkulačním systému pitné vody bez mechanické filtrace při 15 °C. Ke sterilizaci temperované vody v recirkulaci bylo použito UV záření.

Dne 27. 4. 2011 (tzn. po jednom dni inkubace) bylo z jedné láhve s nejvyšší stanovenou oplozeností odebíráno potřebné množství jiker k nasazení a vlastnímu provedení experimentu. Jikry byly z láhve odebírány cejchovanou skleněnou trubičkou o vhodném vnitřním průměru. Jedno nabrání obsahovalo 250 kusů jiker, které byly přemístěny do předem připravených experimentálních košíčků v odchovných kolíbkách (viz. příloha č. 1) s vytemperovanou a odstátím po dobu 24 hodin dechlorovanou pitnou vodou se zavedeným vzduchováním přes vzduchovací kameny pro zajištění přísunu kyslíku k jikrám a kontinuálnímu míchání vody. Pro možnost statistického vyhodnocení pokusu bylo do každé kolíbkky umístěno pět košíčků (viz. příloha č. 2), tzn. 5 x 250 jiker v jedné kolébce o objemu vody 42 litrů. Pro celý experiment bylo použito 10 000 kusů jiker.

Po celý čas experimentu teplota vody v kolébkách odpovídala teplotě vzduchu v rybí líhni, kolíčky byly bez vlastní teploty (tab. č. 1). Nebyly zaznamenány výrazné teplotní odchylky, které by mohly vést ke zpomalení líhnivosti či poškození jiker. Částečná výměna vody byla prováděna denně ve všech kolíčkách odčerpáním polovičního množství a doplnění upravené vody z líhně do potřebného množství. Doplnění vody muselo být šetrné, aby nedošlo k vyplavení jiker z košíčků. Zdravotní stav jiker byl vizuálně kontrolován min. dvakrát denně.

Antimykotické koupele jiker byly provedeny v den nasazení experimentu na košíčky (1. den inkubace) a zopakovány 3. den inkubace jiker. Příprava a dávkování roztoků byly prováděny dle návodů doporučených výrobcí jednotlivých preparátů (tab. č. 1). Jako hlavní testovaný přípravek byl zvolen preparát Persteril[®]36 (Overlack, spol. s.r.o.) v koncentracích uvedených v tabulce č. 3 a dezinfekční prostředky: ToruMin, Acriflavin, TeraP a Aquahum[™]. V kontrolní kolíbce nebylo použito žádných desinfekčních prostředků.

Tabulka č. 2: Teplota vody v experimentálních kolíčkách (°C)

Den inkubace	Datum	Čas	Teplota (°C)	Pozn.
1.	28.4.	15:00	13,3	První koupele
	28.4.	17:00	14,8	
	28.4.	22:00	14,4	Kontrola
2.	29.4.	14:30	13,6	Výměna vody
	29.4.	16:30	13,8	
	29.4.	18:00	13,8	Kontrola
3.	30.4.	12:15	13,8	Nové koupele
	30.4.	22:00	13,7	Výměna vody
4.	1.5.	10:45	13,5	
	1.5.	19:40	13,6	
5.	2.5.	16:45	13,4	Výměna vody
6.	3.5.	11:15	14,6	Výměna vody
7.	4.5.	15:00	12,7	Počítání
8.	5.5.	8:30	11,5	Počítání

Zdroj: Autor

Tab. č. 3: Na přípravu lázně pro koupele v Persterilu[®](36%)

Číslo misky/koncentrace KPO (mg · l ⁻¹ KPO)	6	7	8
KPO (mg do 42 litrů)	42	84	126
Přepočet na Persteril [®] 36 (mg do 42 litrů)	120	240	360
Dávka naředěného roztoku (ml do 42 litrů)	120	240	360

Zdroj: doc. Máchová

Persteril[®]36 bylo nutné naředit a vytvořit pracovní roztok, který se připraví smícháním určité dávky Persterilu[®]36 (1 ml) a dolije se pitnou vodou na celkový objem 1 litr. Takto připravený pracovní roztok je nutné důkladně promíchat (Zusková a kol., 2011). Z kterého budou následovně odebírány dávky uvedené v tabulce č. 3. V kolíbkce č. 6 byl aplikován v koncentraci 120 ml, č. 7 s 240 ml a č. 8 s 360 ml. Koncentrace ostatních prostředků byla přepočítána podle koncentrací uvedených na informačním štítku výrobce. Jednotlivé preparáty se odměřily pomocí mikropipety do plastové nádoby s vodou z aparátů. Celý roztok bylo nutné důkladně promíchat skleněnou tyčinkou. Doba expozice stanovena na 24 hodin.

Tab. č. 4: Na přípravu lázně pro koupele v ostatních přípravcích

	Výrobce uvedené koncentrace / l ⁻¹	Přepočtené koncentrace ve 42 l
AquahumTM	0,05	2 ml
Acriflavin	0,1	4 ml
ToruMin	0,5	20 ml
TeraP	0,5 kapek	21 kapek

Zdroj: Autor

Ad 2) Aplikace uvedených dezinfekčních přípravků do vodního prostředí proběhla postupně podle označených kolíbek. Kolíbkca č. 1 sloužila jako kontrola, resp. bez dezinfekčních prostředků a ošetření jiker. Do kolíbkky č. 2 byl aplikován ToruMin (fotografie č. 3). Ihned po přidání přípravku do vody, se voda zbarvila do světle hnědé barvy. Obdobně tomu bylo u preparátu AquahumTM v kolíbkce č. 5. V kolíbkce č. 3 byl použit acriflavin, který zbarvil vodu do světle žluta. TeraP v kolíbkce č. 4 zbarvil vodu do světle modré barvy. U ostatních č. 6 – 8 s Persterilem[®]36 nebylo viditelné zbarvení vody v kolíbkce.

Tab. č. 5: Číslování kolíbek

Číslo kolíčky	Dezinfekční prostředek
1	Kontrola (bez ošetření)
2	ToruMin
3	Acridflavin
4	TeraP
5	Aquahum TM
6	PAA 120 ml
7	PAA 240 ml
8	PAA 360 ml

Zdroj: Autor

Hodnocení účinnosti použitých desinfekčních preparátů na přežití a líhivost jiker jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) probíhalo šestý a osmý den ve fázi postupného kulení jiker. Jednotlivé košíčky byly vyjmuty z kolíčky, vykulený plůdek přelit do misky s vodou a spočítán. Rovněž byly spočítány a odstraněny mrtvé a zaplísňené jikry. Živé a prozatím nevykulené jikry byly spočítány a vráceny v košíčku do kolíčky k dalšímu vývoji.

4. Výsledky a diskuze

Poslední den bylo senzorycky znatelné v jednotlivých kolíbkách zaplísnění jiker. V některých případech desinfekční prostředek pozitivně ovlivnil dřívější vykulení embryí, i když jikry na aparáty byly nasazeny současně a pocházely ze stejného výtěru. Poslední dva dny experimentu byly věnovány analýze jiker. Výsledky a závěrečné hodnocení jednotlivých přípravků jsou uvedeny v tabulkách.

4.1. Kontrola

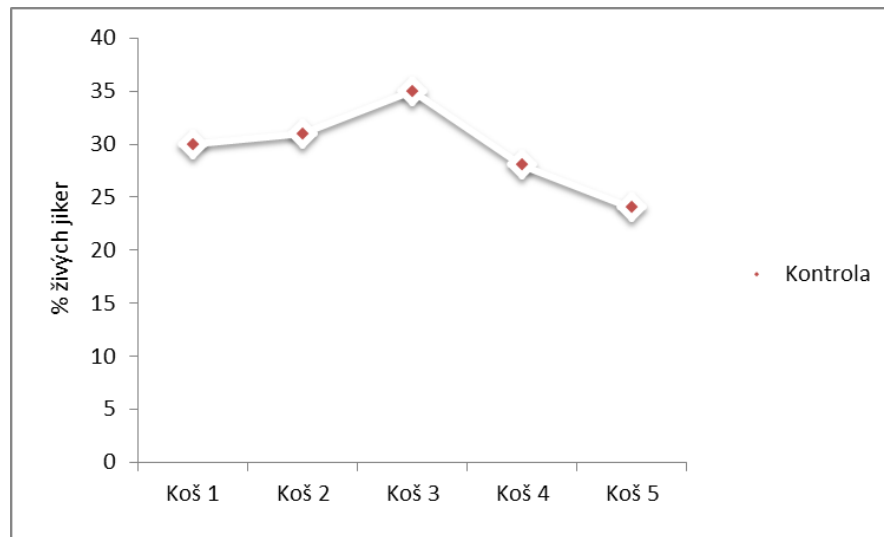
Tab. č. 6: Hodnocení kolíbků bez použití dezinfekčních prostředků

Koř	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	30	70	31	Velice rozsáhlá a viditelná plíseň, tvořená shluky jiker
2.	31	69		
3.	35	65		
4.	28	72		
5.	24	76		

Zdroj: Autor

Tato tabulka bude následně sloužit pro kontrolu a k porovnávání účinnosti přípravků používaných při pokusu. Z tabulky je zřejmé, že jikry jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) jsou velice citlivé a choulostivé k plísním. Při hodnocení jednotlivých košíčků byla úroveň zaplísnění srovnatelná s některými dalšími koši. Procento přežitých jiker v této kolíbkce velice překvapilo, i bez jakéhokoli ošetření oplozených jiker došlo k vykulení embryí, které nevykazovala malformace. Pouze u dvou kusů, bylo viditelné zakřivení páteře a znemožněný pohyb.

Graf č. 1: Kontrola živých jiker (%)



Zdroj: Autor

Tento graf se směrodatnou odchylkou 3,61 % živých jiker bude nadále srovnáván s ostatními dezinfekčními přípravky pro lepší přehlednost a možné individuální zhodnocení. I přesto mohu říci, že v kontrole bylo dosaženo podprůměrného výsledku, ale například v porovnání kontroly s TeraP a některými koncentracemi Persterilu[®] 36 dopadla lépe.

4.2. ToruMin

Tab. č. 7: Úspěšnost koupele v ToruMinu o koncentraci $0,5 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

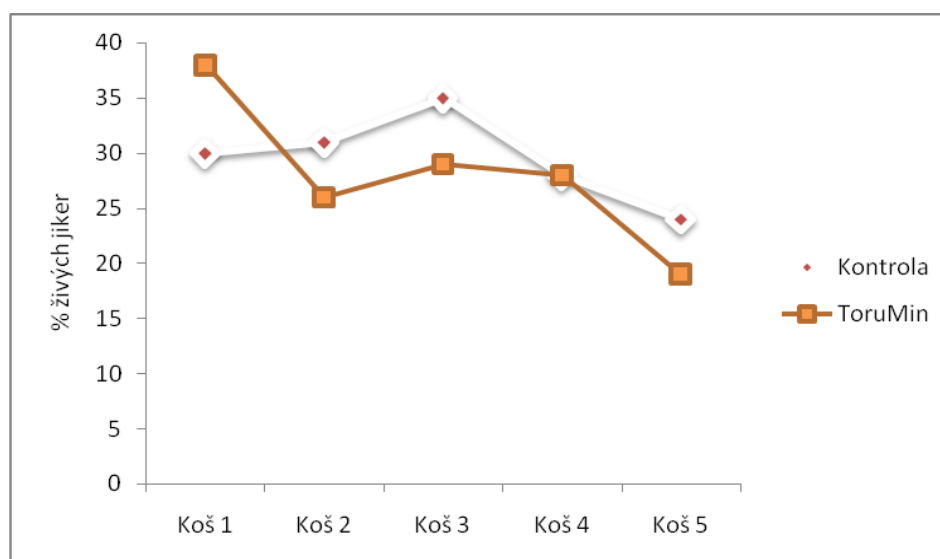
Koř	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	38	62	0	Velice rozsáhlá viditelná plíseň, tvořená shluky jiker, žádné vykulení
2.	26	74		
3.	29	71		
4.	28	72		
5.	19	81		

Zdroj: Autor

Koupele jiker v přípravku ToruMin nedosáhly očekávaných výsledků. Dle výrobce se přípravek využívá k úpravě vody, nikoliv ke koupeli jiker. Snižuje hodnotu pH vody a při inkubaci jiker má spíše negativní účinky. V porovnání s kontrolou dosáhla o několik procent horších výsledků a nedošlo zde k žádnému vykulení jiker.

Při statistickém průzkumu se přípravek od kontroly nelišil, tudíž nebyl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: $F(1; 8) = 0,09514$, $p = 0,76562$] se směrodatnou odchylkou 6,09 % živých jiker.

Graf č. 2: Grafické znázornění ToruMinu v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

V grafu můžeme vidět negativní vliv na inkubaci jiker. Pouze koř 1 při hodnocení dopadl lépe. Může to být zapříčiněno umístěním koře v kolíbce v blízkosti vzduchování. Větší přísun kyslíku mohl ovlivnit tuto skutečnost.

4.3. Acriflavin

Tab. č. 8: Úspěšnost koupele v Acriflavinu o koncentraci 0,1 ml · l⁻¹

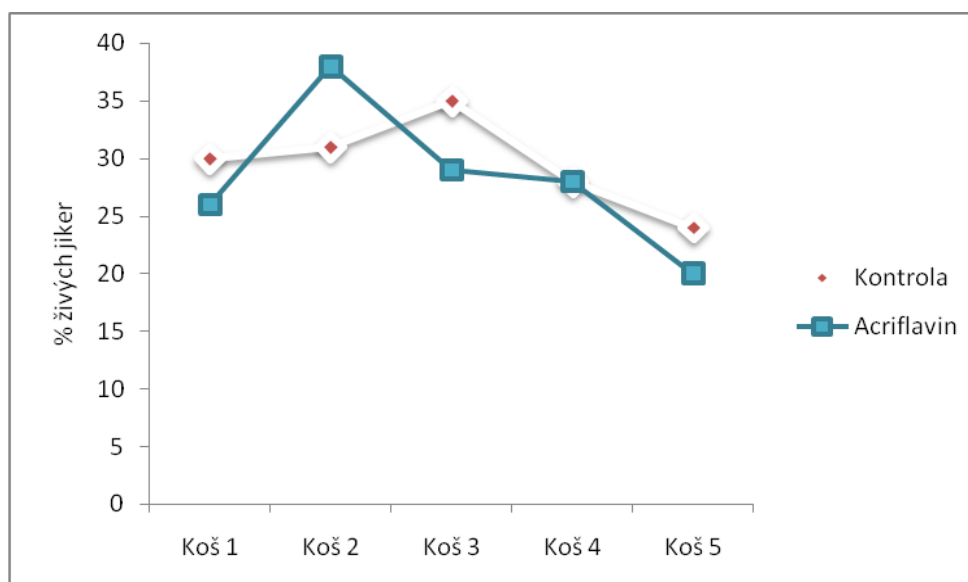
Koš	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	26	74	7	Velice rozsáhlá viditelná plíseň, znatelné rozkladné procesy, voda zapáchá
2.	38	62		
3.	29	71		
4.	28	72		
5.	20	80		

Zdroj: Autor

Při analýze bylo zřejmé silné zaplísnění a hnilobné procesy probíhající ve vodě. Ale i přes tyto negativní efekty dosál podprůměrných výsledků. Výrobce uvádí pro maximální efekt účinnosti minimálně desetihodinovou expozici, což je z rybářského hlediska velké negativum, určitě i z ekonomické stránky.

U tohoto přípravku byl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: F (1; 8) = 53,018, p = 0,00009] se směrodatnou odchylkou 5,82 % živých jiker.

Graf č. 3: Grafické znázornění Acriflavinu v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

4.4. TeraP

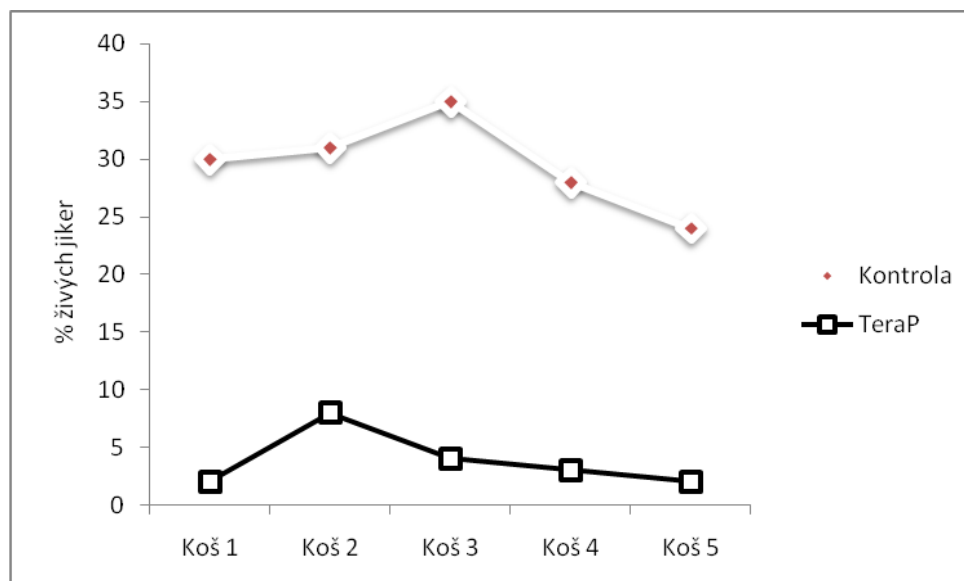
Tab. č. 9: Úspěšnost koupele v TeraP o koncentraci $0,5 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

Koš	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	2	98	0	Silné zaplísnění, nevykulení jedinci
2.	8	92		
3.	4	96		
4.	3	97		
5.	2	98		

Zdroj: Autor

U tohoto přípravku byl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: $F(1; 8) = 82,162$, $p = 0,00002$] se směrodatnou odchylkou 2,23 % živých jiker.

Graf č. 4: Grafické znázornění TeraP v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

Tento přípravek se při koupeli neosvědčil. Ze všech hodnocených přípravků dopadl nejhůře. Plíseň byla velice rozsáhlá. Jikry, které byly analyzovány jako živé, byly v košíčkách pouze samostatně bez jakéhokoli kontaktu s ostatními jikrami, např. mezi shluky jiker. Mohu usoudit, že tento přípravek narušil podmínky prostředí oplozených jiker a nedošlo ani k žádnému vykulení. TeraP není vhodný k inkubaci jiker jesetera malého (*Acipenser ruthenus*).

4.5. Aquahum™

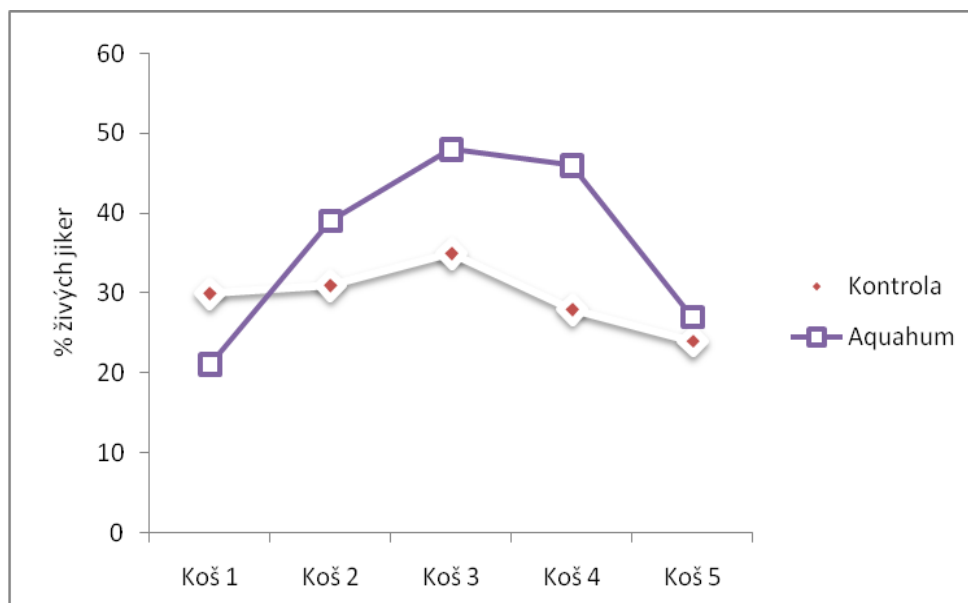
Tab. č. 10: Úspěšnost koupele v Aquahum™ o koncentraci 0,4 ml · l⁻¹

Koš	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	21	79	62	Shluky zaplísňených jiker
2.	39	61		
3.	48	52		
4.	46	54		
5.	27	73		

Zdroj: Autor

U tohoto přípravku nebyl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: $F(1; 8) = 2,0526$, $p = 0,18984$] se směrodatnou odchylkou 10,57 % živých jiker.

Graf č. 5: Grafické znázornění Aquahum™ v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

Testovaný přípravek prozatím vykazuje nejlepší procento přežitých jiker. V koši č. 1 a č. 5 byly viditelné shluky jiker a silné zaplísnění. V ostatních koších byly shluky minimální o počtu 5 až 10 kusů jiker. Velký rozsah živých a mrtvých jiker v koši č. 1 a 5 mohlo být zapříčiněno rozpořčením košíčků v kolíbce. Koš č. 1 byl v kolíbce velmi blízko vzduchování, kde mohlo dojít k poškození jiker narážením o sebe vlivem silného proudu vody, které vedlo k mechanickému poškození a sekundárně k zaplísnění jiker.

Opakem byl koš č. 5, který byl nejdále od vzduchování, a k oplozeným jikrám se během inkubace nedostalo potřebné množství kyslíku. V porovnání s ostatními preparáty AquahumTM byl velice úspěšný, i když výrobce uvádí využití spíše v akvaristice, v mém pokusu při průměrné teplotě 15 °C dosáhl uspokojivého výsledku.

4.6. Ředěný roztok Persterilu® 36 (120 ml)

Tab. č. 11: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu® 36 o koncentraci 120 ml · 42 l⁻¹

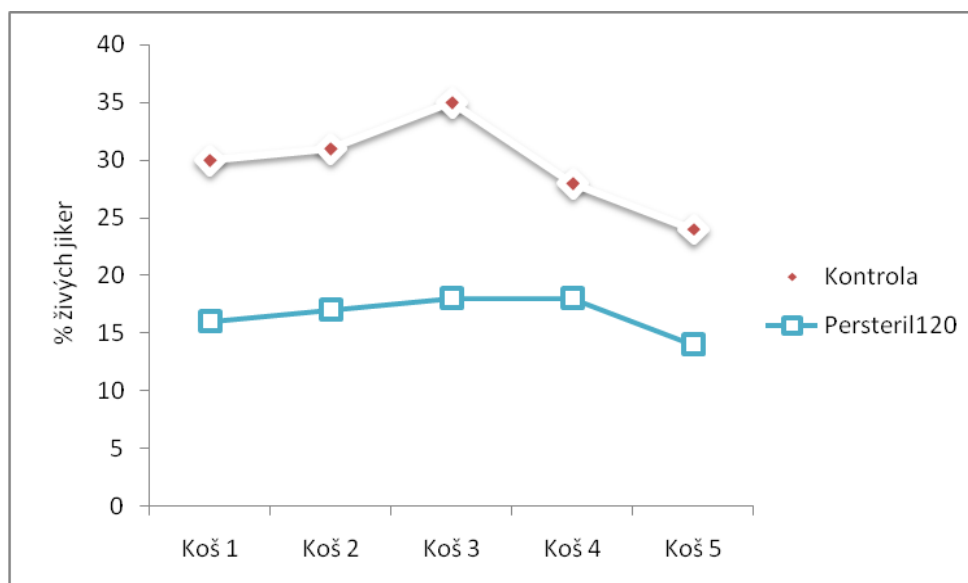
Koš	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	16	84	14	Shluky zaplísněných jiker
2.	17	83		
3.	18	82		
4.	18	82		
5.	14	86		

Zdroj: Autor

Po vyjmutí košíčku z kolíčky bylo ihned patrné zakalení vody a probíhající rozkladné procesy. Voda v košíčku mírně zapáchala a obsahovala velké shluky zaplísněných jiker. Po přemístění jiker do plastové misky jsem rozdělil shluky na jednotlivé jikry, ale v nich po důkladné analýze nebyly žádné živé. Ty se nacházely pouze samostatně, obvykle s 2 – 3 jikrami. Zvolená nejnižší koncentrace Persterilu® 36 měla spíše negativní účinek, který se projevil nízkým přežitím jiker.

U tohoto přípravku byl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: $F(1; 8) = 38,473$, $p = 0,00026$] se směrodatnou odchylkou 1,6 % živých jiker.

Graf č. 6: Grafické znázornění Persteril® 36 120 ml v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

4.7. Ředěný roztok Persterilu[®]36 (240 ml)

Tab. č. 12: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu[®]36 o koncentraci 240 ml · 42 l⁻¹

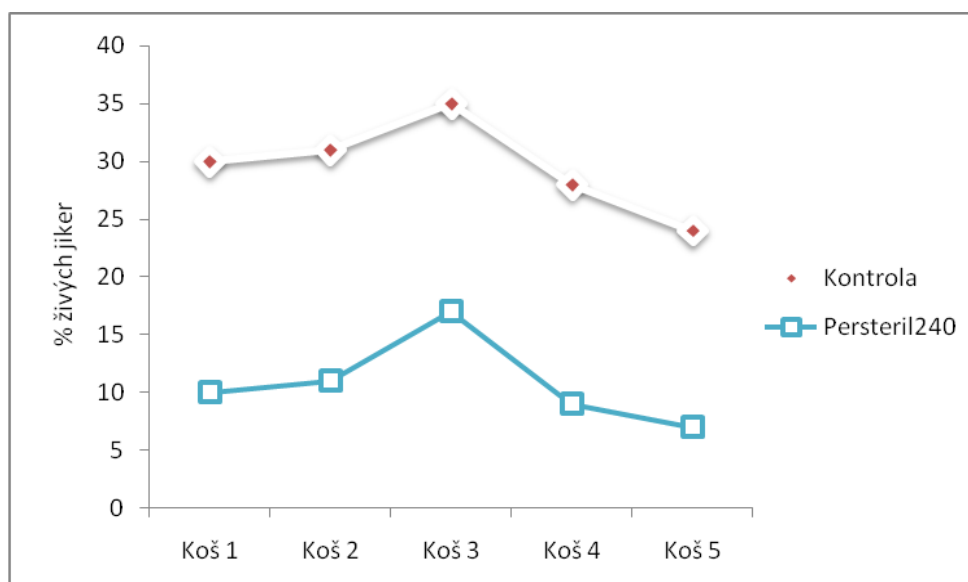
Koř	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	10	90	0	Shluky zaplísňených jiker
2.	11	89		
3.	7	83		
4.	9	91		
5.	7	93		

Zdroj: Autor

V porovnání s předchozími výsledky se ani tato koncentrace neprojevila jako velice účinná. Po analýze jednotlivých kořů, nejlépe dopadl koř č. 3 v porovnání s ostatními koři v této koupeli. Jikry byly silně zaplísňené, tvořené shluky v zápachající vodě. Persteril[®]36 o koncentraci 240 ml pozitivně neovlivnil přežití jiker.

U tohoto přípravku byl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: $F(1; 8) = 58,663$, $p = 0,00006$] se směrodatnou odchylkou 1,6 % živých jiker.

Graf č. 7: Grafické znázornění Persteril[®]36 240 ml v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

4.8. Ředěný roztok Persterilu[®] 36 (360 ml)

Tab. č. 13: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu[®] 36 o koncentraci 360 ml · 42 l⁻¹

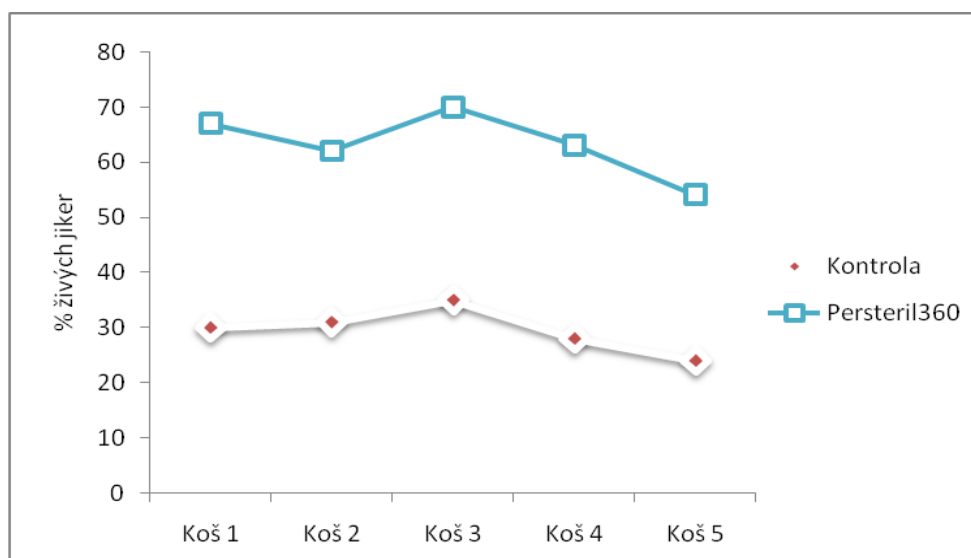
Koš	Údaje v procentech (%)			Poznámka
	Živých jiker	Uhynulých jiker	Embryo	
1.	67	33	227	Individuálně zaplísněné jikry, nejlepší vykulení
2.	62	38		
3.	70	30		
4.	63	37		
5.	54	46		

Zdroj: Autor

Výsledky poslední koncentrace Persterilu[®]36 mohou označit jako pro můj experiment velice důležité. Nejvyšší koncentrace a nejlepší dosažené výsledky přežitých a vykulených embryí. Občasné shluky zaplísněných jiker o počtu 5 – 8 kusů, které byly v blízkosti zárodečných obalů. Jelikož nedocházelo k vyplavování jiker, byly jikerné obaly po celou dobu v košíčkách společně s ostatními. Stal se z nich optimální substrát pro rozvoj plísní, které bylo doprovázeno odumíráním oplozených jiker.

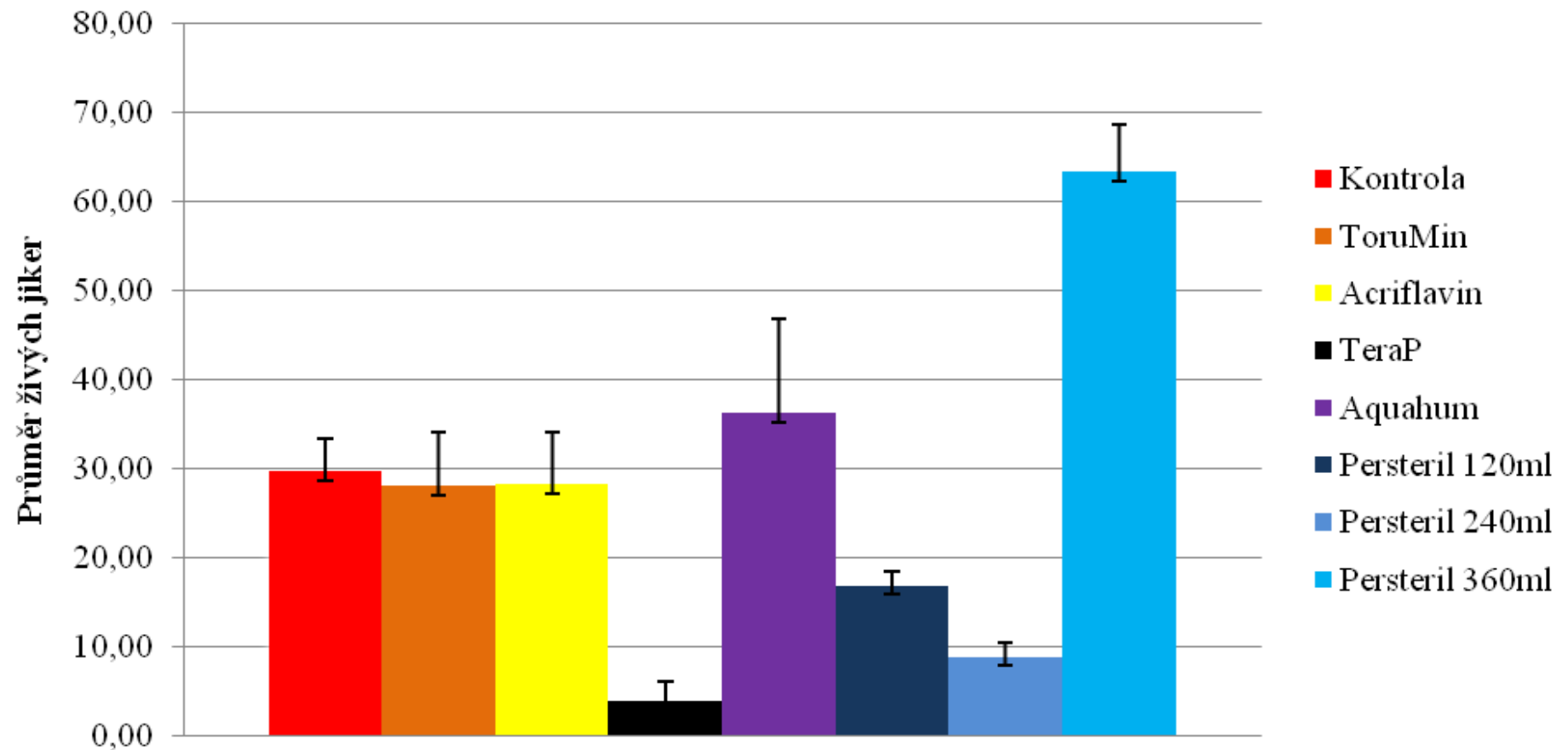
U tohoto přípravku byl nalezen statistický rozdíl [ANOVA test: F (1; 8) = 58,627, p = 0,00006] se směrodatnou odchylkou 5,41 % živých jiker.

Graf č. 8: Grafické znázornění Persteril[®]36 360 ml v porovnání s kontrolou



Zdroj: Autor

Souhrnný graf úspěšnosti všech použitých preparátů v pokusu



Zdroj: Autor

┃ - směrodatná odchylka

Z grafu je zřejmé, že směrodatná odchylka v kontrole se může statisticky lišit o 3,61 % živých jiker ve všech koších. Nejvyššího statistického rozdílu bylo dosaženo u přípravku AquahumTM, který přesáhl hodnotu 10,57 % všech živých jiker. Ostatní preparáty: ToruMin se směrodatnou odchylkou 6,09 %; Acriflavin 5,82 %; TeraP s hodnotou 2,23 % a první dvě zvolené koncentrace Persterilu[®]36 1,6 %. Nejúčinnější koncentrace o hodnotě 5,41 % živých jiker. Směrodatná odchylka byla vypočítána z průměrné hodnoty živých jiker.

5. Závěr

V této bakalářské práci s názvem Použití Persterilu[®] v praxi k prevenci mykóz jiker a koupele plůdku jeseterovitých ryb v porovnání s užívanými přípravky byl testován účinek a vhodnost preparátů na vývoj oplozených jiker inkubovaných v experimentálních podmínkách. Vedle hlavního přípravku Persterilu[®]36 ve třech koncentracích s předpokládaným antimykotickým účinkem.

Hlavní testovaná látka ve třech zvolených koncentracích se nejlépe jeví v nejvyšším množství, naředěném 360 ml. V porovnání s ostatními preparáty vykazuje průkazně na menší zaplísňenost jiker a dokonce má pozitivní vliv na líhnivost. Která dosáhla maximálního počtu vykuleného váčkového plůdku. Díky jeho vlastnostem nezanechává rezidua ve vodě a z vody se časem odpaří, v závislosti na použité koncentraci.

Další pokusy byly provedeny s přípravky ToruMin, Acriflavin, TeraP a Aquahum[™]. Průměrného výsledku dosáhly první dva jmenované přípravky. Nejhůře dopadl přípravek firmy AQUAR s. r. o., který mohu označit za nevhodný pro dezinfekci jiker jesetera malého. Přípravek je vhodný pro akvarijní ryby, v experimentu neobstál. Mohlo to být zapříčiněno nízkou teplotou v průběhu experimentu a tak minimální účinností. Alternativou Persterilu[®]36 by mohl být v úvahu preparát Aquahum[™], který v experimentu dosáhl předepsaného účinku výrobcem.

Hodnocení bylo prováděno s co největší přesností. Výsledky, pro lepší vizuální srovnání byly převedeny na procenta. Byly porovnány podíly zaplísňených a nezaplísňených jiker a taktéž množství vylíhnutých embryí.

Při provádění antiparazitárních a protiplísňových koupelí jiker jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) je nutno dodržovat co největší pečlivost při aplikaci a přesnost při výpočtech aplikované dávky. Zanedbání těchto opatření se může projevit nedostatečnou účinností prováděných koupelí či poškození s následným úhynem ošetřených jiker. Důležitý faktor, který je nutné dodržet po celou dobu experimentu je optimální teplota po dobu vývoje a pravidelná kontrola aparátů pro okamžité řešení náhle vzniklých problémů. Cíl bakalářské práce přinesl hned několik zajímavých výsledků, týkajících se možnosti rozšíření využití dezinfekčních přípravků o dosud méně používané. Poznatky, které byly získány tímto experimentem, mohou být využity v dalších výzkumech v provozních podmínkách líhně.

6. Přehled použité literatury

Publikace

- Attramadal, J. K. K., Øie, G., StØrseth, T. R., Alver M. O., Vadstein, O., Olsen, Y., 2012. The effects of moderate ozonation or high intensity UV-irradiation on the microbial environment in RAS for marine larve. *Aquaculture* [online]. č. 330-333, s. 121-129 [cit. 2013-02-12].
- Block, S.S., 2001. *Disinfection, sterilization, and preservation*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins.
- Gela, D., Rodina, M. a O. Linhart., 2008. *Řízená reprodukce jeseterů (Acipenser)*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, 24 s. ISBN 978-80-85887-62-4.
- Kitis, M., 2004. Disinfection of waster with peracetic acid. *Science and direkt* [online]. č. 30, s. 47-55 [cit. 12. 4. 2004].
- Koivunen, J., Heinonen-Tanski, H., 2005. Peracetic acid (PAA) disinfection of primary, secondary and tertiary treated municipal wastewaters. *Water research* [online]. č. 39, s. 4445-4453. [cit. 2013-02-12].
- Kolářová, J. a Z. Svobodová., 2009. *Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb*, Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 30 s. ISBN 978-80-85887-88-4.
- Kouřil, J. a J. Hamáčková., 1998. *Použití jodisolu k prevenci mykóz jiker kaprovitých a některých dalších druhů ryb*. Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 3 s. ISBN 80-85887-21-5.
- Kouřil, J., Svobodová, Z., Vykusová, B. a J. Hamáčková., 1984. *Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce*. 1. vyd. Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 8 s.
- Liltved, H., 2003. *Dezinfekce vody v akvakultuře: faktory ovlivňující fyzikální a chemickou inaktivaci mikroorganismů = Disinfection of water in aquaculture : factors influencing the physical and chemical inactivation of microorganisms*. Přeložil Rudolf Berka. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 12 s. ISBN 80-85887-45-2.
- Pedersen, L. F., Pedersen P. B., Nielsen J. L., Nielsen P. H., 2009. Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture* [online]. č. 296, s. 246-254 [cit. 2013-02-12].

- Seydlová, R., Seydl, M., 1997. *Vztah cen sanačních prostředků k nákladům na výrobu mléka*. č. 6, s. 40 [cit. 2013-02-13].
- Sharrer, M. J., Summerfelt, T. S., 2007. Ozonation followed by ultraviolet irradiation provils effective bakteria inactivation in a freshwater recirculating systém. *Science an direkt* [online]. č. 37, s. 180-191[cit. 2013-02-15].
- Summerfelt, T. S., 2002. Ozonation and UV irradiation-an introduction and examples of current applications. *Science and direct* [online]. č. 28, s. 21-36. [cit. 2013-02-12].
- Summerfelt, T. S., Sharrer, M. J., Tsukuda, M. S., Gearheart, M., 2009. Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. *Aquacultural Engineering* [online]. č. 40, s. 17-27 [cit. 2013-02-12].
- Svobodová, Z. a kol., 2007. *Nemoci sladkovodních a akvarijských ryb*. 4.vyd. Praha: Informatorium, 264 s. ISBN 978-80-7333-051-4.
- Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J. a D. Gela., 2011. *Možnosti využití kyseliny peronové v rybářské praxi*. České Budějovice: Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeská univerzita, 26 s. ISBN 978-80-87437-28-5.

Internetové zdroje

- AG TOP TIP. *Amagro humic substances*. [online]. [cit. 2013-02-27]. Dostupné z <http://www.amagro.com/aquahum.html>
- ISSA CZECH. *Eurosarm*. [online]. [cit 2013-03-10]. Dostupné z <http://www.eurosarm.cz/web/structure/home-14.html?lang=cz>
- STUDIO VIRTUALIS. *Dajana*. [online]. [cit. 2013-03-10]. Dostupné z <http://www.dajanapet.cz/cz/>

Zákony

- Zákon č. 166/1999 Sb. - o veterinární péči a o změně souvisejících zákonů (veterinární zákon)
- Zákon č. 258/2000 Sb. - o ochraně veřejného zdraví a související předpisy

7. Seznam zkratek

FMC – dezinfekční prostředek, obsahující Malachitovou zeleň a metylenovou modř

KPO – kyselina peroctová, čirá bezbarvá kapalina s ostrým octovým zápachem, sumární vzorec $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$

MRL – maximální residuální limit

PAA – systematický název kyseliny peroxyethanové (kys. peroctové)

RAS – recirkulační akvakulturní systém

SÉRRŮV ROZTOK – složení na 100ml: 60 ml etanolu 96%, 30 ml formaldehydu 38%, 10 ml ledové kyseliny octové 99 % (Rodina, 2006)

UV – ultrafialové záření, pro člověka neviditelné o vlnové délce kratší než má viditelné světlo

8. Seznam tabulek, obrázků, grafů a příloh

Tabulky

Tab. č. 1: Spektrum účinnosti Persterilu[®]36

Tab. č. 2: Naměřené hodnoty teploty vody

Tab. č. 3: Na přípravu lázně pro koupele v Persterilu[®]36

Tab. č. 4: Na přípravu lázně pro koupele v ostatních přípravcích

Tab. č. 5: Číslování kolíbek

Tab. č. 6: Hodnocení kolíčky bez použití dezinfekčních prostředků

Tab. č. 7: Úspěšnost koupele v ToruMinu o koncentraci $0,5 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

Tab. č. 8: Úspěšnost koupele v Acriflavinu o koncentraci $0,1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

Tab. č. 9: Úspěšnost koupele v TeraP o koncentraci $0,5 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

Tab. č. 10: Úspěšnost koupele v Aquahum[™] o koncentraci $0,4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

Tab. č. 11: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu[®]36 o koncentraci $120 \text{ ml} \cdot 42 \text{ l}^{-1}$

Tab. č. 12: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu[®]36 o koncentraci $240 \text{ ml} \cdot 42 \text{ l}^{-1}$

Tab. č. 13: Úspěšnost koupele v naředěném roztoku Persterilu[®]36 o koncentraci $360 \text{ ml} \cdot 42 \text{ l}^{-1}$

Obrázky

Obr. č. 1: Odumřelé a živé jikry (Svobodová, 2007)

Obr. č. 2: Plíseň na jikrách (Svobodová, 2007)

Obr. č. 3: Přehled dezinfekčních prostředků

Grafy

Graf č. 1: Kontrola živých jiker (%)

Graf č. 2: Grafické znázornění ToruMinu v porovnání s kontrolou

Graf č. 3: Grafické znázornění Acriflavinu v porovnání s kontrolou

Graf č. 4: Grafické znázornění TeraP v porovnání s kontrolou

Graf č. 5: Grafické znázornění Aquahum[™] v porovnání s kontrolou

Graf č. 6: Grafické znázornění Persteril[®]36 120 ml v porovnání s kontrolou

Graf č. 7: Grafické znázornění Persteril[®]36 240 ml v porovnání s kontrolou

Graf č. 8: Grafické znázornění Persteril[®]36 360 ml v porovnání s kontrolou

Graf č. 9: Souhrnný graf úspěšnosti všech použitých preparátů v pokusu

Přílohy

Příloha č. 1: Semistatické uspořádání nádrží

Příloha č. 2: Plastové košíčky

Příloha č. 3: Aplikace ToruMinu

Příloha č. 4: Hodnocení jiker

Příloha č. 5: Miska s jikrami

Příloha č. 6: Biopsie gonád trokarem u *Acipenser ruthenus*

Příloha č. 7: Inkubace, Persteril[®] 36 360 ml.

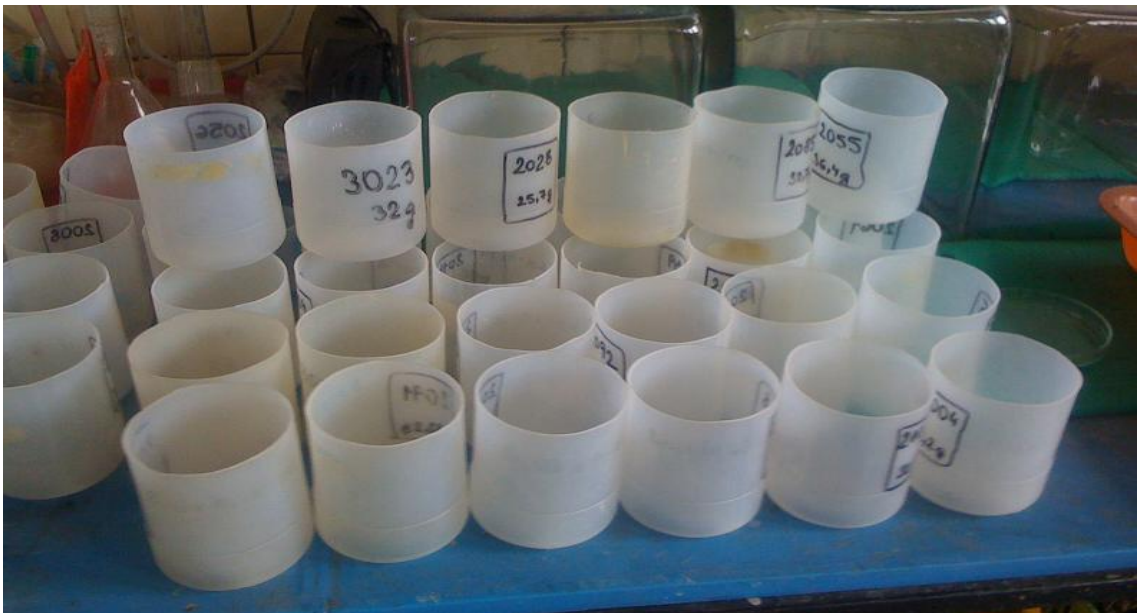
Příloha č. 8: Pomůcky při počítání jiker

9. Přílohy

Příloha č. 1: Semistatické uspořádání nádrží



Příloha č. 2: Plastové košíčky



Příloha č. 3: Aplikace ToruMinu



Příloha č. 4: Hodnocení jiker



Příloha č. 5: Miska s jikrami



Příloha č. 6: Biopsie gonád trokarem u *Acipenser ruthenus*



Zdroj: Gela (2008)

Příloha č. 7: Inkubace, Persteril® 36 360 ml.



Příloha č. 8: Pomůcky při počítání jiker



10. Abstrakt

Použití Persteril[®]36 (*Acidum peraceticum*) v praxi k prevenci mykóz jiker a koupele plůdku jeseterovitých ryb v porovnání s užívanými přípravky se zabývá jejich dezinfekční účinností. V experimentální části byly použity tři koncentrace Persterilu[®]36, jehož aktivní složkou je kyselina peroctová (36%) a mezi dalšími byly hodnoceny ToruMin, Acriflavin, TeraP a Aquahum[™]. Persteril[®]36 ve vysokých koncentracích jeví jako velice účinný biocid, který nezanechává rezidua a neškodí životnímu prostředí. Ostatní dezinfekční prostředky byly podrobně zhodnoceny ve výsledcích. Některé z nich se jeví jako velice efektivní a předčily očekávané výsledky.

Klíčová slova: Persteril[®]36, plísňové infekce, jikry, koupele, dezinfekce

11. Abstract

Using Persteril[®]36 (*Acidum peraceticum*) in practice for the prevention of fungal infections of eggs and fry baths sturgeon in comparison with the used products deals with the disinfection efficiency. In the experimental part were used three concentrations Persteril[®]36, whose active ingredient is peracetic acid (36%), and the other were evaluated ToruMin, Acriflavin, TeraP and Aquahum[™]. Persteril[®]36 in high concentrations appear to be very effective biocide, that leaves no residue and is not harmful to the environment. Other disinfectants have been evaluate detail in the results. Some of them appear to be very effective and they results exceeded expectations.

Key words: Persteril[®]36, fungal infections, fish eggs, bath, disinfection