



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

TECHNICKÁ ZPRÁVA PROJEKTU

Název projektu:

**Desinfekční postupy v chovech
kaprovitých ryb se zaměřením na kvalitu
vodního prostředí**

Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001217



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Příjemce:

Obchodní firma nebo název: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod
Adresa: Branišovská 1645/31a, 370 05 České Budějovice
IČ: 60076658
Registrační číslo projektu: CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001217
Název projektu: Desinfekční postupy v chovech kaprovitých ryb se zaměřením na kvalitu vodního prostředí
Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna vědecký subjekt zastupovat:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

Partner projektu:

Název nebo obchodní jméno: Rybářství Hluboká cz. s.r.o.
Adresa: Tyršova 681, 373 41 Hluboká nad Vltavou
IČ: 28087992
Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna partnerský subjekt zastupovat:

Ing. Vladimír Kaiser

Zpracovatel technické zprávy projektu:

Název nebo obchodní jméno: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod
Adresa: Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany
IČ: 60076658
Místo a datum zpracování technické zprávy: Vodňany, 31. 5.2022
Jména a příjmení osob, které zpracovaly technickou zprávu:

MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.

Jméno a příjmení osoby, která je oprávněna zpracovatele technické zprávy zastupovat:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Souhlas s publikací technické zprávy:

Souhlasím se zveřejněním této technické zprávy projektu v rámci opatření 2.1. Inovace z Operačního programu Rybářství 2014 – 2020 na internetových stránkách Ministerstva zemědělství a s využíváním výsledků této technické zprávy všemi subjekty z odvětví rybářství.

Podpis osoby oprávněné zastupovat:

1. Příjemce dotace (veřejnoprávní subjekt):

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.

2. Partnera projektu (podnik akvakultury):

Ing. Valdimír Kaiser

3. Zpracovatele technické zprávy:

prof. PhDr. Bohumil Jiroušek, Dr.



Obsah

1 Cíl	5
1.1 Co je cílem projektu	5
1.2 V čem spočívá inovativnost technologie	5
1.3 Proč je nutná inovace, která je předmětem projektu	5
2 Úvod	6
3 Provedené pokusy a testy	6
Laboratorní pokusy.....	6
3.1. Testy toxicity s Chloraminem T a KPO	6
3.1.1. Metodika	6
3.1.2. Výsledky.....	7
3.1.3. Závěr.....	7
3.2 Posouzení desinfekčních látek (Chloramin T, KPO, chlorové vápno) ve vztahu k organickému zatížení vody	7
3.2.1. Metodika	7
3.2.2. Výsledky.....	8
3.2.3. Závěr.....	9
3.3 Testování vlivu Chloraminu T, KPO a chlorového vápna na parazitární a bakteriální osídlení ryb, a na hematologické a biochemické ukazatele.....	10
3.3.1. Metodika	10
3.3.2. Výsledky.....	12
3.3.3. Závěr.....	15
Provozní pokusy	15
3.4 Provozní ošetření vody Chloraminem T, KPO a chlorovým vápnem.....	15
3.4.1. Metodika	15
3.4.2. Výsledky.....	16
3.4.2.1. Chloramin T	16
3.4.2.2. KPO	19
3.4.2.3. Chlorové vápno	21
3.5.3. Závěr.....	22
4 Závěr	22
5 Přílohy.....	24
5.1 Fotodokumentace k provedeným laboratorním a terénním testům	24



1 Cíl

1.1 Co je cílem projektu

Cílem projektu bylo ověřit účinnost a efektivitu desinfekčního ošetření vody za účelem snížení infekčnosti zatíženého prostředí a nemocnosti přechovávaných ryb. V průběhu projektu byly ryby vystaveny zůstatkovým koncentracím vybraných desinfekčních látek (Chloramin T, kyselina peroctová – KPO) přetrvávajících v předem ošetřené vodě. Po expozici bylo provedeno zdravotní vyšetření ryb a byla zhodnocena použitá dávka pro úpravu vody na parazitární a bakteriální osídlení exponovaných ryb a hydrochemické parametry vody. Výstupem projektu je modelové schéma aplikace vybrané desinfekční látky snižující zatížení infikované vody patogenními agens, a tím zefektivnění chovného procesu daného minimalizací ztrát způsobených nalezenými infekčními činiteli.

1.2 V čem spočívá inovativnost technologie

Inovativnost předkládaného projektu spočívá v neinvazivním začlenění ošetření vodního prostředí do chovného procesu tak, aby se maximálně snížily nenadálé, nárazové ztráty při přechovávání ryb a použitá voda byla vhodně "recyklována" a zbavena choroboplodných zárodků bez rizik následného zatížení životního prostředí ošetřující látkou. Nejeefektivnější řešení úpravy vody budou aplikovatelná i v jiných provozech zaměřených na odchov kapra obecného ve ztížených hydrologických podmínkách.

Řešení projektu navázalo na dva již vyřešené pilotní projekty zaměřené na testování kys. peroctové v chovech kaprovitých a lososovitých ryb (CZ.1.25/3.4.00/11.00389, CZ.1.25/3.4.00/13.00449) s tím, že protektivní účinky přípravků na bázi kyseliny peroctové (KPO) zde byly doplněny o běžně využívané desinfekční látky na bázi chloru (Chloramin T, chlorové vápno). Řešený projekt je zaměřen zejména na preventivní ošetření zatížené vody, kde byl sledován efekt aplikace jmenovaných desinfekčních látek na hydrochemické vlastnosti vody, a následně na rozvoj bakteriálních a parazitárních infekcí ryb chovaných v takto ošetřené vodě v porovnání s kontrolními skupinami.

1.3 Proč je nutná inovace, která je předmětem projektu

Kvalita vody je limitujícím faktorem rybářského hospodaření a má zásadní vliv na zdravotní stav ryb a úroveň produkce. Při zhoršené kvalitě vody je prozíravé soustředit se na její úpravu a předejít tak potencionálním ztrátám způsobeným rozvojem patogenních činitelů v chovném prostředí. V posledních letech je stále složitější mít k dispozici dostatečné množství nezávadné vody pro napuštění velkoobjemových sádkovacích systémů a sofistikované ošetření patogenně zatížené vody z přilehlých zarybněných lokalit se jeví jako úsporný prvek v celém odchovném procesu.



2 Úvod

Dobrý zdravotní stav ryb a adekvátní kvalita vody jsou předními limitujícími faktory rybářského hospodaření. Řada podniků musí v současné době řešit kromě problémů spojených s technologií chovu ryb, zdravotní problematikou a marketingem, ještě problémy ekologické, které narůstají s dlouhotrvajícím deficitem srážkové činnosti. V posledních letech se častěji setkáváme i s dlouhým zdržením ryb na sádkách, v souvislosti se špatným odbytem ryb a nízkým tržním cenám. Nedostatek zdrojové nezávadné vody vhodné pro sádkování vede k nutnosti používat vodu z lokalit zatížených patogenními agens. Aby takto využívaná voda neovlivnila negativně zdravotní stav ryb a následně i míru produkce, je třeba ji pro obsádku vhodně připravit. Virulence přítomných patogenů je výrazně ovlivněna kvalitou a znečištěním vody. Jako vhodné dezinfekční látky pro úpravu vody a likvidaci choroboplodných zárodků se jeví přípravky s obsahem chloru (Chloramin T a chlorové vápno) a přípravky na bázi kyseliny peroctové-KPO. Chlorové vápno, jako další dostupný desinfekční prostředek na bázi chloru, bylo do projektu zahrnuto dodatečně. Všechny tři přípravky nezanechávají v prostředí rezidua, a i když mají nízký terapeutický index, který udává poměr koncentrace přípravku vyvolávající u ryb úhyn (LC50) ku dávce vyvolávající léčebný účinek (EC50), lze jejich zbytková množství ve vodě využít k preventivnímu ošetření ryb.

3 Provedené pokusy a testy

V průběhu řešení tohoto projektu CZ.10.2.101/2.1/0.0/20_018/0001217 „**Desinfekční postupy v chovech kaprovitých ryb se zaměřením na kvalitu vodního prostředí**“ byly realizovány laboratorní i provozní pokusy zaměřené na odzkoušení zůstatkových koncentrací desinfekčních látek (Chloramin T, KPO, chlorové vápno) po ošetření vody na bakteriální a parazitární zatížení ryb a hydrochemickou kvalitu vody. Chlorové vápno, jako další dostupný a perspektivní desinfekční prostředek na bázi chloru využívaný v akvakulturách, bylo do projektu zahrnuto dodatečně, proto některá testování (zejména provozní) s touto látkou nemají dostatečnou průkaznost danou opakováním.

Laboratorní pokusy

3.1. Testy toxicity s Chloraminem T a KPO

3.1.1. Metodika

S testovanými preparáty **Chloramin T** a **KPO** byl proveden:

- test akutní toxicity na kapru obecném - proveden podle standardně operačního postupu SOP 01, který vychází z normativních postupů ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby /*Brachydanio rerio* Hamilton Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)/ Část 2: Obnovovací metoda, OECD 203 Fish, Acute Toxicity Test



3.1.2. Výsledky

Koncentrace **Chloraminu T**, při které během 96 h uhynulo 50 % testovaných ryb (= 96hLC50) byla 9,7 mg/l. Jednotlivé parametry vody použité v testu byly: celkový amoniak 0,03 mg/l; NO_3^- 4,6 mg/l; PO_4^{3-} <0,02 mg/l; chemická spotřeba kyslíku – CHSK_{Mn} 1,4 mg/l; kyselinová neutralizační kapacita - $\text{KNK}_{4,5}$ 1,15 mmol/l; $\Sigma \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ 0,95 mmol/l; Cl^- 11 mg/l. Teplota vody byla v průběhu testu $16 \pm 1^\circ\text{C}$, nasycení kyslíkem 85–94 % a pH v rozmezí 7,2–7,6.

Koncentrace Persterilu 15%, při které během 96 h uhynulo 50 % testovaných ryb (= 96hLC50) byla 28,7 mg/l, z čehož plyne, že 96hLC50 **KPO** odpovídá 1,4 mg/l.

Výsledky provedených akutních testů toxicity jsou uvedeny v tabulce 1 a jsou doplněny o data toxicit získaná v předchozích projektech.

Tab.1: Výsledky testů toxicity **Chloraminu T** a **KPO** (doplněné i o další důležité vodní organismy testované v předchozích projektech).

Název testu	Použitý organismus	Výsledek (mg/l)
Test akutní toxicity (Chlor. T)	<i>Cyprinus carpio</i>	96hLC50 = 9,7
Test akutní toxicity (KPO)	<i>Cyprinus carpio</i>	96hLC50 = 1,4
Akutní imobilizační test (KPO)	<i>Daphnia magna</i> Straus	48hEC50 = 2
Inhibiční test (KPO)	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	72hIC50 = 4

3.1.3. Závěr

Z výsledků je patrné, že i nízké koncentrace desinfekčních látek mohou vyvolávat zdravotní problémy a při ošetření vody s následným naskladněním ryb je vhodné tyto zbytkové koncentrace aplikovaných látek ověřit.

3.2 Posouzení desinfekčních látek (Chloramin T, KPO, chlorové vápno) ve vztahu k organickému zatížení vody

3.2.1. Metodika

Test byl zaměřený na sledování množství organických látek za využití chemické (CHSK) a biochemické (BSK) spotřeby kyslíku ve vodě s obsahem různých desinfekčních prostředků aplikovaných v koncentracích využitelných v provozu. K testu byla použita povrchová voda odebraná z experimentálních sádek Hluboká. Naměřené základní parametry kvality vody jsou uvedeny v tabulce č. 2. Pokus probíhal pro všechny tři desinfekční prostředky (chloramin T, KPO a chlorové vápno) za stejných podmínek, při teplotě vody $17 \pm 2^\circ\text{C}$. Stanovení chemické spotřeby kyslíku manganistanem draselným podle Kubela (CHSK_{Mn}) s ohřevem vzorku na varné desce bylo metodicky prováděno dle Horákové a kol. (1986). Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným (CHSK_{Cr}) bylo prováděno fotometricky, stanovením s předchozím ohřevem vzorku v mineralizačním boxu (metoda je analogická s ČSN ISO 6060). Biochemická spotřeba kyslíku (BSK_5) byla prováděna manometrickou metodou s použitím



měřicích hlav OxiTop – C a řídicí jednotkou OxiTop OC100. Obsah volného chlóru byl měřen kolorimetricky za využití mobilního přístroje HACH DR 900.

Literatura: Horáková, M., Lischke, P., Grünwald, A., 1986. Chemické a fyzikální metody analýzy vod, SNTL Praha).

Dávkování desinfekčních prostředků:

1) Chloramin T

Navážka 100 mg chloraminu T byla kvantitativně převedena do 5 l experimentální vody a řádně promíchána.

2) KPO

Pro dávkování KPO byl použit zásobní roztok (6,7 ml Persterilu 15 do 1l vody), ze kterého bylo 5 ml přidáno do 5 l experimentální vody a řádně promícháno.

3) Chlorové vápno

Navážka 7,5 mg chlorového vápna byla kvantitativně převedena do 5 l experimentální vody a řádně promíchána.

3.2.2. Výsledky

Naměřené hodnoty jednotlivých testovaných desinfekčních látek jsou uvedeny v tab. 2-5.

Tab. 2: Parametry (jednotky) vody bez desinfekčního prostředku – kontrola.

Čas (h)	CHSK _{Mn} (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	BSK ₅ (mg/l)	Volný Cl ₂ (mg/l)
0	20,5	69	8,4	0,02
3	20,5	60	-	-

Tab. 3: Parametry (jednotky) vody ošetřené Chloraminem T (ChT).

Čas (h)	CHSK _{Mn} (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	BSK ₅ (mg/l)
0	19,5	90	1,4
1	17,0	-	-
2	19,2	-	-
3	17,9	80	-
5	17,0	-	-

Tab. 4: Parametry (jednotky) vody ošetřené KPO.

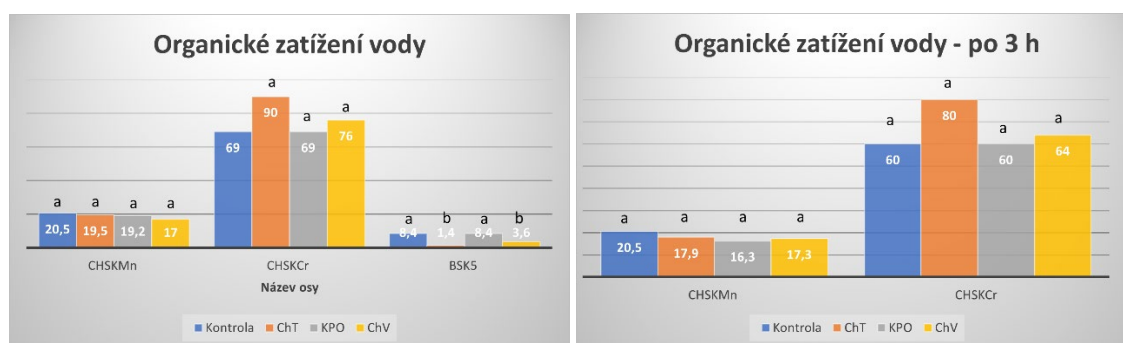
Čas (h)	CHSK _{Mn} (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	BSK ₅ (mg/l)
0	19,2	69	8,4
1	17,0	-	-
2	17,9	-	-
3	16,3	60	-
5	17,6	-	-



Tab. 5: Parametry (jednotky) vody ošetřené chlorovým vápnem (ChV).

Čas (h)	CHSK _{Mn} (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	BSK ₅ (mg/l)	Volný Cl ₂ (mg/l)
0	17,0	76	3,6	0,08
0,5	-	-	-	0,07
1	18,9	-	-	0,08
2	18,9	-	-	0,07
3	17,3	64	-	0,07
5	17,9	-	-	0,08
7	-	-	-	0,08

Graf 1: Organické zatížení vody po aplikaci jednotlivých desinfekčních látek (chloraminu T, KPO a chlorového vápna) bezprostředně a 3 hodiny po aplikaci.



Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$.

3.2.3. Závěr

Výsledné hodnoty jsou v rozsahu chyb stanovení příslušných použitých metod. Statisticky významná změna nastala pouze u parametru BSK₅ (viz graf 1), kde došlo vlivem desinfekčních prostředků – Chloraminu T a chlorového vápna k eliminaci bakterií napomáhajících biologické degradaci organických látek. Volný chlor Cl₂ byl měřitelný pouze v kontrole a u chlorového vápna, kde jeho hodnoty i 7 hodin po aplikaci zůstávaly stabilní. V chloraminu T nelze volný chlor vzhledem k povaze vazby kolorimetricky změřit. Na podkladě výsledků lze konstatovat, že aplikace desinfekčních látek do zatížené vody v příslušných koncentracích nemá výrazný vliv na organické zatížení.



3.3 Testování vlivu Chloraminu T, KPO a chlorového vápna na parazitární a bakteriální osídlení ryb, a na hematologické a biochemické ukazatele.

3.3.1. Metodika

Pro experiment byla využita pokusná akvária v místnostech Laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie. Před začátkem experimentu byla akvária vydezinfikována přípravkem s 5% obsahem chlornanu sodného a důkladně očištěna vodou. Pro experiment bylo využito 12 dvacetilitrových akvárií naplněných vodou do ½ objemu. Experiment probíhal za stálých podmínek prostředí při průměrné teplotě vody 17 °C za přítomnosti aerace v podobě vzduchovacích kamínků. Při experimentu nebyla použita žádná umělá světla a probíhal tedy podle aktuálních světelných podmínek. Do experimentu bylo nasazeno 60 ks kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) o průměrné hmotnosti 38 g z terénních podmínek. Ryby byly po dobu 1 dne aklimatizovány ve společně v kádi o objemu 500l a následně byly rozděleny po 5ti kusech do 12 akvárií (1skupina = 3akvária = 15 ryb). Voda v akváriích byla bezprostředně před nasazením ryb ošetřena následovně:

- **Kontrola** - ryby ponechány v čisté vodovodní vodě
- **ChT** - voda ošetřena 20 mg/l Chloraminu T
- **KPO** - voda ošetřena 1 mg/l Kyseliny peroctové
- **ChV** - voda ošetřena 1,5 mg/l Chlorového vápna

Ryby byly v ošetřené vodě přechovány 3 dny. Chloramin T a chlorové vápno bylo využito jednorázově, zatímco aplikace KPO v dávce 1 mg/l probíhala každé ráno v 9:00. K aplikaci KPO byl použit přípravek Persteril 15 v deklarovaném složení: KPO 14-17 %; H₂O₂ 20-25 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1 %. Fyzikální vlastnosti vody byly denně měřeny přístrojem MultiLine P4 od výrobce WTW. Zaznamenávány byly hodnoty pH, teploty vody(°C), koncentrace kyslíku (mg/l) a nasycení vody kyslíkem (%).

Po 3denní expozici byla rybám odebrána krev, následně byly usmrceny zastřihnutím a přerušením míchy za hlavou a byl proveden bakteriologický stěr z oblasti hřbetní svaloviny (5 cm) a dále byly ryby parazitologicky vyšetřeny.

Odběr krve byl proveden pomocí heparinizovaných injekčních stříkaček z ocasní cévy (*vena caudalis*). Takto odebrána krev byla zpracována podle metodiky Svobodová a kol. (2012). Stanovení hematologických parametrů proběhlo neprodleně po odebrání vzorků. Krevní plazma byla bezprostředně po odběru zamražena na – 80 °C a skladována do doby provedení biochemických analýz.

Hematologickým vyšetřením byly stanoveny následující parametry: počet erytrocytů (RBC-T/l), hematokrit (PCV-l/l), hemoglobin (Hb-g/l), střední objem erytrocytů (MCV-fl), střední obsah hemoglobinu v erytrocytu (MCH-pg) a střední barevná koncentrace (MCHC-l/l).



Krevní plazma pro biochemické vyšetření byla získána odstředěním krve v odstředivce Microcentrifuge MPW-55 při 14 000 otáčkách po dobu 3 minut. Separovaná plazma byla do doby biochemické analýzy uložena v mrazícím boxu při teplotě -80°C . Biochemické indikátory byly stanoveny na biochemickém analyzátoru VETTEST 8008 (IDEXX Laboratories Inc. U.S.A., firmy Medissoft), který pracuje na principu suché chemické a kolorimetrické analýzy, kde vyhodnocení probíhá na selektivních testovacích discích (Multi-laiier film slides, Kodak) laserovým čtením bar kódů. Stanoveny byly následující parametry: glukóza (GLU-mmol/l), celkové bílkoviny (TP-g/l), albuminy (ALB-g/l), globuliny (GLOB-g/l) alanin aminotransferáza (ALT-U/l), aspartát aminotransferáza (AST-U/l), alkalická fosfatáza (ALP-U/l), vápník (Ca-mmol/l), cholesterol (Chol-mmol/l), triacylglyceroly (TRIG-mmol/l) a fosfor (PHOS-mmol/l).

Bakteriologické vyšetření bylo provedeno po odběru krve. Postup tohoto vyšetření byl stejný u všech zkoumaných jedinců. Pomocí sterilního tamponu byla jedním táhlým pohybem setřena kůže pod hřbetní ploutví (cca 5 cm) a odebraný stěr byl umístěn do transportního media a odeslán svoznou linkou na bakteriologickou identifikaci do SVÚ České Budějovice, kde byly identifikovány bakteriální druhy, provedena citlivost nalezených druhů k antimikrobiální terapii a následně provedeno i semikvantitativní zhodnocení bakteriálních kolonií (viz tab. 6).

Tab. 6: Determinace stupně **bakteriální infekce** pomocí stupnice 1-5.

Označení	Slovní hodnocení	Jiné označení	Růst bakterií
1	slabá infekce	+	méně než 50 KTJ
2	mírná infekce	++	50 - 100 KTJ
3	střední infekce	+++	100 - 200 KTJ
4	silná infekce	++++	200 - 300 KTJ
5	masivní infekce	+++++	vice než 300 KTJ

KJT – kolonie tvořící jednotky

Parazitologické vyšetření bylo provedeno po bakteriologickém stěru. Postup tohoto vyšetření byl stejný u všech zkoumaných jedinců. Pomocí skalpelu byla jedním táhlým pohybem setřena kůže v úrovni postranní čáry (kožní stěr) a po umytí skalpelu byl setřen první žaberní oblouk od chrupavky až po konec žaberních lístků (žaberní stěr). Tyto vzorky byly umístěny na podložní sklíčko, byla přidána kapka vody a byly překryty krycím sklíčkem. Takto zhotovený preparát byl připraven na determinaci rybích parazitů pomocí mikroskopu při 40 až 100x zvětšení. Byla vyhodnocena prevalence (%) a průměrný stupeň intenzity nalezených druhů infekcí (viz tab.5) vypočtený pouze z infikovaných ryb.



Tab. 7: Determinace stupně parazitární infekce pomocí stupnice 0-4.

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

Statistické zpracování: Výsledky hematologických a biochemických rozborů byly vyhodnoceny a porovnány statistickým programem STATISTICA (verze 8.0 pro Windows, StatSoft) za použití dvoucestného ANOVA testu. Výsledky bakteriologického a parazitologického vyšetření byly porovnány za použití Mann Whitney testu. Statisticky významné rozdíly byly vyhodnoceny na hranici významnosti ($P < 0,05$ a $P < 0,01$).

Literatura: Svobodová, Z., Pravda, D., Modrá, H., 2012. Metody hematologického vyšetřování ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, FROV. 38 s.

3.3.2. Výsledky

MORTALITA

Během pokusu nedošlo k úhynu u žádné ze skupin. Ryby ze skupiny ChV jevily zpočátku neklid a mírné pohybové odchylky v plavání.

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Hodnoty hematologických ukazatelů jednotlivých skupin jsou zaznamenány v tabulce 8. Statisticky významný rozdíl ($P < 0,01$) byl zaznamenán u hematokritu (PCV), který byl v chloraminové skupině (ChT) vyšší v porovnání s kontrolou. Dále byly zaznamenány statisticky významné meziskupinové rozdíly ($P < 0,01$) obsahu hemoglobinu, kdy se však změněné hodnoty nelišily od kontrolní skupiny.

Tab. 8: Hematologické parametry kapra obecného po třídní expozici Chloraminu T (ChT), kyselině peroctové (KPO) a chlorovému vápnu (ChV).

Parametr (jednotky)	Kontrola $\bar{x} \pm SD$ (n=10)	ChT $\bar{x} \pm SD$ (n=10)	KPO $\bar{x} \pm SD$ (n=10)	ChV $\bar{x} \pm SD$ (n=10)
RBC (T/l)	$2,08 \pm 0,40^a$	$2,52 \pm 0,39^a$	$2,01 \pm 0,14^a$	$2,14 \pm 0,50^a$
PCV (l/l)	$0,43 \pm 0,04^b$	$0,55 \pm 0,04^a$	$0,41 \pm 0,03^b$	$0,47 \pm 0,03^b$
Hb (g/l)	$96,68 \pm 5,26^{ab}$	$108,98 \pm 9,82^a$	$90,81 \pm 5,55^b$	$91,91 \pm 12,83^b$
MCV (fl)	$211,33 \pm 25,43^a$	$220,02 \pm 22,09^a$	$205,69 \pm 21,56^a$	$228,31 \pm 48,27^a$
MCH (pg)	$47,86 \pm 8,80^a$	$43,98 \pm 6,28^a$	$45,45 \pm 5,39^a$	$45,13 \pm 12,63^a$
MCHC (l/l)	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,20 \pm 0,02^a$	$0,22 \pm 0,01^a$	$0,20 \pm 0,03^a$

Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,01$. Pro lepší přehlednost jsou tyto změny zvýrazněny červenou barvou.



BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

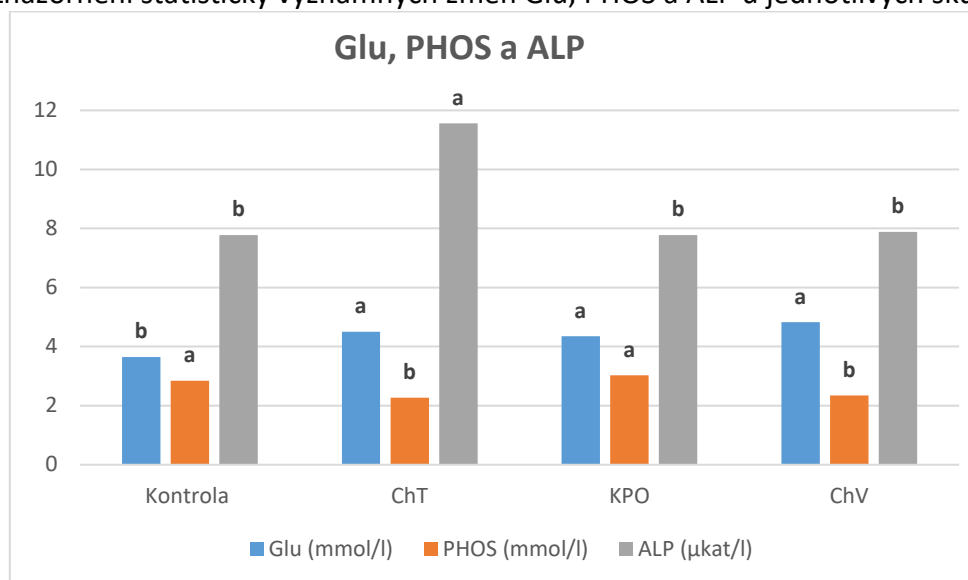
V biochemickém profilu byly naměřeny statisticky významně ($P < 0,05$) vyšší hodnoty glukózy u všech testovaných skupin (ChT, KPO i ChV) v porovnání s kontrolou. U chloraminové skupiny (ChT) byla dále zaznamenána statisticky významně vyšší ($P < 0,05$) aktivita alkalické fosfatázy (ALP) a nižší hladina fosforu ($P < 0,01$) v porovnání s kontrolní skupinou. Nižší hladina fosforu byla naměřena rovněž u skupiny chlorového vápna (ChV). Změny Glu, PHOS a ALP jsou zaznamenány v grafu 2. Hodnoty biochemických parametrů jsou uvedeny v tabulce 9.

Tab. 9: Biochemické parametry kapra obecného po po třídní expozici Chloraminu T (ChT), chlorovému vápnu (ChV) a kyselině peroctové (KPO).

Parametr (jednotky)	Kontrola $x \pm SD$ (n=10)	ChT $x \pm SD$ (n=10)	KPO $x \pm SD$ (n=10)	ChV $x \pm SD$ (n=10)
Glu (mmol/l)	$3,65 \pm 0,75^b$	$4,50 \pm 0,32^a$	$4,35 \pm 0,53^a$	$4,83 \pm 0,47^a$
TP (g/l)	$30,33 \pm 4,00^a$	$32,33 \pm 1,80^a$	$29,11 \pm 1,62^a$	$32,11 \pm 2,62^a$
ALB (g/l)	$10,78 \pm 0,67^{ab}$	$11,22 \pm 1,09^b$	$9,78 \pm 0,97^a$	$11,22 \pm 0,97^a$
GLOB (g/l)	$19,67 \pm 2,55^a$	$21,11 \pm 2,32^a$	$19,33 \pm 1,58^a$	$20,89 \pm 1,83^a$
ALT ($\mu\text{kat/l}$)	$73,89 \pm 41,56^{ab}$	$56,22 \pm 8,77^b$	$79,44 \pm 12,44^{ab}$	$90,11 \pm 22,59^a$
AST ($\mu\text{kat/l}$)	$435,11 \pm 254,60^a$	$279,33 \pm 18,51^a$	$344,11 \pm 48,70^a$	$435,67 \pm 219,46^a$
ALP ($\mu\text{kat/l}$)	$7,78 \pm 2,05^b$	$11,56 \pm 2,55^a$	$7,78 \pm 1,20^b$	$7,89 \pm 1,36^b$
Ca (mmol/l)	$1,87 \pm 0,08^{ab}$	$1,99 \pm 0,08^b$	$1,79 \pm 0,12^a$	$1,98 \pm 0,09^{ab}$
CHOL (mmol/l)	$3,76 \pm 0,47^a$	$3,51 \pm 0,09^a$	$3,42 \pm 0,29^a$	$3,59 \pm 0,14^a$
TRIG (mmol/l)	$0,89 \pm 0,35^a$	$0,95 \pm 0,11^a$	$0,93 \pm 0,22^a$	$0,85 \pm 0,41^a$
PHOS (mmol/l)	$2,85 \pm 0,47^a$	$2,27 \pm 0,22^b$	$3,03 \pm 0,15^a$	$2,35 \pm 0,38^b$

Odlíšná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$, pro PHOS ($P < 0,01$). Pro lepší přehlednost jsou tyto změny zvýrazněny červenou barvou.

Graf 2: Znázornění statisticky významných změn Glu, PHOS a ALP u jednotlivých skupin.



Odlíšná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$, pro PHOS $P < 0,01$.



BAKTERIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KŮŽE

Bakteriologickým vyšetřením byly na kůži identifikovány následující druhy: *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* a *Shewanella putrefaciens*. U všech druhů bylo provedeno testování citlivosti k antimikrobiálním látkám diskovou difúzní metodou (viz tab. 10).

Tab. 10: Citlivost vykultivovaných bakterií vůči antimikrobiálním léčivům.

Zvíře: kožní stěr	<i>Aeromonas caviae</i>			<i>Aeromonas hydrophila</i>			<i>Aeromonas veronii</i>			<i>Shewanella putrefaciens</i>		
	DDM	MIC	MIC NAP	DDM	MIC	MIC NAP	DDM	MIC	MIC NAP	DDM	MIC	MIC NAP
Antimikrobikum	C/I/R	C/I/R	mg/l	C/I/R	C/I/R	mg/l	C/I/R	C/I/R	mg/l	C/I/R	C/I/R	mg/l
Enrofloxacin*	C	-	-	C	-	-	C	-	-	C	-	-
Florfenikol	C	-	-	C	-	-	C	-	-	C	-	-
Flumequine*	C	-	-	C	-	-	C	-	-	R	-	-
Neomycin	C	-	-	C	-	-	C	-	-	R	-	-
Nitrofurantoin	C	-	-	C	-	-	C	-	-	C	-	-
Oxytetracyclin	C	-	-	C	-	-	C	-	-	C	-	-
Trimethoprim/sulfamethoxazol 1/19	C	-	-	C	-	-	C	-	-	C	-	-

Semikvantitativní zhodnocení bakteriálních kolonií ze stěru kapra je uvedeno v tabulce 11. Výrazného bakteriálního eliminačního efektu na kůži kapra bylo dosaženo u skupiny ChV následované KPO. U skupiny ChT se snížení bakteriálního zatížení kůže kapra neprojevovalo.

Tab.11: Průměrný stupeň bakteriální infekce (1-5: viz tab. 6) u všech testovaných skupin.

Skupina	Kontrola	ChT	KPO	ChV
	(n=10)	(n=10)	(n=10)	(n=10)
Stupeň infekce ($\bar{x} \pm SD$)	3,0 $\pm$ 1,1 ^a	3,8 $\pm$ 1,0 ^a	2,5 $\pm$ 0,5 ^{ab}	1,8 $\pm$ 1 ^b

Odlišná písmena indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$

PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KŮŽE

Parazitologicky byly na kůži nalezeny 4 parazitární druhy – *Apiosoma* sp., *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp. a *Ichtyophthirius* sp. Výrazného léčebného efektu bylo dosaženo u infekce *Trichodina* sp., kde došlo k úplné eliminaci u skupiny ChT a téměř úplné eliminaci u skupiny KPO, zatímco u ChV nebyl výrazný efekt zaznamenán. Infekce *Apiosoma* sp. byla eliminována u všech skupin (viz tab. 12).

Tab.12: Prevalence (%) a průměrný stupeň intenzity parazitární infekce kůže vyšetřovaných ryb (0-4) u všech testovaných skupin (n=10).

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)			
	KŮŽE			
	<i>Trichodina</i>	<i>Apiosoma</i>	<i>Gyrodactylus</i>	<i>Ichtyophthirius</i>
Kontrola	100/2,7	90/1,4	40/1	30/1,3
ChT	0/0	0/0	0/0	0/0
KPO	10/2	0/0	0/0	0/0
ChV	70/1	0/0	0/0	20/1

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



PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ ŽABER

Na žábrách byli nalezeni paraziti *Ichthyophthirius* sp., *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp., *Apiosoma* sp. a *Gyrodactylus* sp.. Poslední jmenovaný žábrolíst a *Apiosoma* sp. byli nalezeni osamoceně jen u dvou ryb, proto byli z celkového parazitárního hodnocení vyloučeni.

Vyšetření žaber potvrdilo trend eliminace trichodinózy u všech skupin. U dalších parazitů nejsou vzhledem k nízké iniciální prevalenci výsledky prokazatelné (viz tab. 13).

Tab.13: Prevalence (%) a průměrný stupeň intenzity parazitární infekce žaber vyšetřovaných ryb (0-4) u všech testovaných skupin (n=10).

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)		
	ŽÁBRY		
	<i>Trichodina</i>	<i>Dactylogyrus</i>	<i>Ichthyophthirius</i>
Kontrola	60/1	30/1	20/1
ChT	0/0	0/0	50/1,4
ChV	0/0	20/1	30/1,3
KPO	0/0	50/1,2	10/1

3.3.3. Závěr

Vzhledem k nulové mortalitě se všechny použité desinfekční látky v daných koncentracích jeví jako využitelné. Naměřené hodnoty hematologických a biochemických ukazatelů se u všech skupin pohybovaly ve fyziologickém rozmezí daného druhu. Nejvíce mírných odchylek – změn způsobila expozice Chloraminu T (ChT), kde se zvýšila aktivita ALP a snížila hladina fosforu. Zvýšená aktivita ALP v séru se vyskytuje v souvislosti s hepatobiliárními problémy a snížený fosfor je dáván do souvislosti s katabolickými ději organismu. Ryby ze skupin ChV a KPO byly na podkladě hematologických a biochemických ukazatelů ovlivněny minimálně.

V eliminaci bakteriálního zatížení bylo nejlepších výsledků dosaženo u skupiny ChV následované KPO. U skupiny ChT se snížení bakteriálního zatížení kůže kapra neprojevovalo.

Antiparazitárně se nejlépe projevilo ošetření vody Chloraminem T a KPO, a to zejména u jednobuněčných parazitů vyskytujících se na kůži (*Trichodina* sp., *Apiosoma* sp.).

Provozní pokusy

3.4 Provozní ošetření vody Chloraminem T, KPO a chlorovým vápnem

3.4.1. Metodika

K testování byly použity vždy 2 sádky o objemu 500 m³, které byly napuštěny vodou z patogenně zatížených lokalit (přečerpání z rybníka). Voda z jedné sádky byla následně ošetřena testovaným desinfekčním přípravkem (Chloramin T, KPO, chlorové vápno), voda z druhé sádky byla ponechána bez ošetření a sloužila jako kontrolní. Do sádky byly



bezprostředně po ošetření nasazeny pokusné ryby v množství 10-20 ryb/sádku v závislosti na velikosti, pocházející z jarních, letních nebo podzimních odlovů. Ryby byly na sádkách přechovávány 3-6 dní. Na konci testu byly ryby odloveny a bylo provedeno bakteriologické a parazitologické vyšetření ryb a hydrochemický rozbor vody.

Postup bakteriologického vyšetření: sterilním tampónem byl proveden stěr z kůže, následně byl odebraný vzorek převezen v transportním mediu na pracoviště SVÚ České Budějovice, kde byla provedena základní kultivace (SOP BAK. 02) a identifikace bakterií metodou MALDI-TOF (SOP BAK. 18), u skupin ChT a KPO bylo provedeno při posledním opakování provedeno semikvantitativní bakteriální vyšetření kožních stěrů (viz tab. 6).

Postup parazitologického vyšetření kůže a žaber: pomocí skalpelu byla jedním táhlým pohybem setřena kůže pod hřbetní ploutví (kožní stěr) a po umytí skalpelu byl setřen první žaberní oblouk od chrupavky až po konec žaberních lístků (žaberní stěr). Tyto vzorky byly umístěny na podložní sklíčko, byla přidána kapka vody a byly překryty krycím sklíčkem. Takto zhotovený preparát byl připraven na determinaci rybích parazitů pomocí mikroskopu při 40 až 100x zvětšení. Byla vyhodnocena prevalence (%) a stupeň intenzity (průměrný počet parazitů na rybu) nalezených druhů parazitárních infekcí (viz tab.7).

Hydrochemické vyšetření bylo zaměřeno na sledování organického zatížení vody prostřednictvím měření chemické spotřeby kyslíku $CHSK_{Mn}$, a to zejména z důvodů možné degradace a inaktivace desinfekčních látek při vyšším organickém zatížení.

Test byl v průběhu projektu proveden celkem 7krát (3x s chloraminem T a KPO a 1x s chlorovým vápnem). Každý jednotlivý test byl na podkladě zkušeností mírně modifikován (zejména doba trvání a aplikovaná koncentrace) s cílem dosáhnout co největšího protektivního efektu. Jednotlivé modifikace jsou popsány níže.

3.4.2. Výsledky

3.4.2.1. Chloramin T

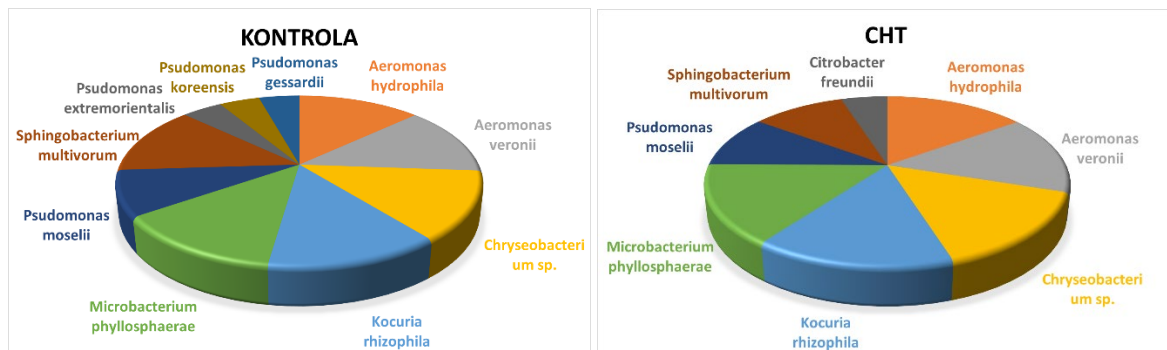
- **Test 1 - ChT**

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1667 ± 348 g. Do pokusné napuštěné sádky byl aplikován Chloramin T v dávce 20 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazeny ryby. Čtvrtý den od nasazení byl do sádky znovu aplikován Chloramin T v poloviční dávce 10 mg/l. Pátý den (1 den po 2. aplikaci Chloraminu T) byly ryby odloveny, parazitologicky a bakteriologicky vyšetřeny (10 ryb z každé skupiny) a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbor. Teplota vody během testu byla $17 \pm 2^\circ\text{C}$.

Bakteriologickým vyšetřením bylo u ryb vykultivováno dohromady 11 bakteriálních druhů, z čehož 10 se vyskytovalo v kontrolní skupině a 8 v pokusné (viz graf 3). Nalezené druhy jsou vesměs fakultativními patogeny, které se mohou negativně uplatnit za konkrétních podmínek prostředí a nastavení cílového organismu (např. imunosuprese, afinita atd.). U obou skupin je bakteriální druhové zastoupení srovnatelné.



Graf 3: Znázornění vykultivovaných bakteriálních druhů/rodů u kontrolní a chloraminové skupiny.



Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tab. 14. Parazitologickým vyšetřením nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly infekce.

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u pokusné skupiny nižší (Kontrola = 20,5 mg/l; ChT = 17,0 mg/l).

Tab.14: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10).

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE	ŽÁBRY
	<i>Dactylogyrus sp.</i>	<i>Dactylogyrus sp.</i> / <i>Gyrodactylus sp.</i>
Kontrola	20/1	70/2,3 / 30/2,3
ChT	50/1	90/1,6 / 0/0

• Test 2 -ChT

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1905±224 g. Do pokusné napuštěné sádky byl aplikován Chloramin T v dávce 20 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazen ryby. Třetí den od nasazení byl do sádky znovu aplikován Chloramin T v dávce 20 mg/l. Čtvrtý den (1 den po 2. aplikaci Chloraminu T) byly ryby odloveny, parazitologicky vyšetřeny (10 ryb z každé skupiny) a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbory. Teplota vody během testu byla 11±2°C.

Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tabulce 15. U dvou kontrolních a dvou ChT ryb byl na kůži zaznamenán ještě parazit *Ambiphrya sp.* a kožovec *Ichtyophthirius multifiliis* (kožovec).

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u pokusné skupiny nižší (Kontrola = 26,6 mg/l; ChT = 19,8 mg/l).



Tab.15: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí > 30 %.

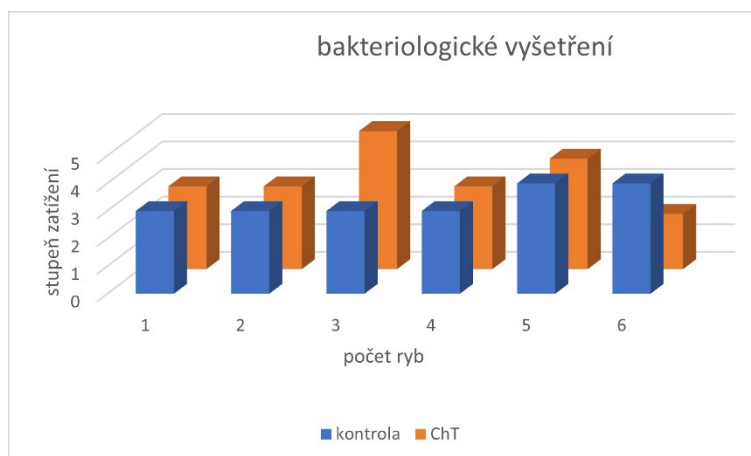
Skupina	Prevalence (%)		/ stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp	<i>Dactylogyrus</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp	<i>Gyrodactylus</i> sp.
Kontrola	60/1	50/1,4	80/2,3	0/0
ChT	0/0	30/1	20/1	40/1

• Test 3 - ChT

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1426 ± 365 g. Do pokusné napuštěné sádky byl aplikován Chloramin T v dávce 20 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazeny ryby. Druhý den od nasazení byl do sádky znovu aplikován Chloramin T v dávce 20 mg/l. Třetí den (1 den po 2. aplikaci Chloraminu T) byly ryby odloveny, parazitologicky vyšetřeny (10 ryb z každé skupiny) a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbory. Teplota vody během testu byla $10 \pm 1^\circ\text{C}$.

Výsledky semikvantitativního zhodnocení bakteriálních kolonií ze stěru kapra jsou znázorněny v grafu 4. U exponovaných ryb nebyly pozorovány rozdíly v porovnání s kontrolou.

Graf 4: Semikvantitativní bakteriologické vyšetření jednotlivých exponovaných a kontrolních ryb (n=6).



Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tabulce 16. U jedné kontrolní a dvou ChT ryb byl na kůži a žábách zaznamenán ještě parazit *Dactylogyrus* sp. a na kůži *Gyrodactylus* sp..

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u pokusné skupiny nižší (Kontrola = 24,5 mg/l; ChT = 18,0 mg/l).



Tab.16: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí > 30 %

Skupina	Prevalence (%)		stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)
	KŮŽE		ŽÁBRY
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Apiosoma</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.
K	30/1	30/2	100/1,8
ChT	50/1	50/1,3	70/1,3

3.4.2.2. KPO

• Test 1 - KPO

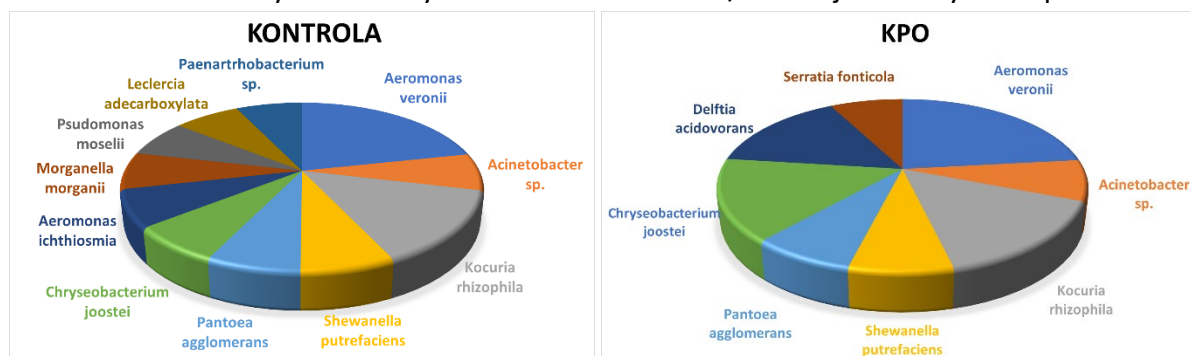
Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1160 ± 266 g. Do pokusné napuštěné sádky byla aplikována KPO v dávce 1 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Ryby byly na sádce ponechány 7 dní, následně byla do sádky znovu aplikována KPO v dávce 1 mg/l. Osmý den (1 den po 2. aplikaci KPO) byly ryby odloveny, parazitologicky a bakteriologicky vyšetřeny (10 ryb z každé skupiny) a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbor. Teplota vody během testu byla $18 \pm 2^\circ\text{C}$.

Bakteriologickým vyšetřením bylo u ryb vykultivováno dohromady 13 bakteriálních druhů, z čehož 11 se vyskytovalo v kontrolní skupině a 8 v pokusné (viz graf 5). Nalezené druhy jsou vesměs fakultativními patogeny, které se mohou negativně uplatnit za konkrétních podmínek prostředí a nastavení cílového organismu (např. imunosuprese, afinita atd.). U skupiny KPO je po ošetření vody patrné nižší druhové bakteriální zastoupení.

Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tab. 17. U kontrolních ryb (1ks) byl na kůži zaznamenán ještě ojedinělý nález kožovce *Ichthyophthirius multifiliis*.

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u obou skupin téměř shodné (Kontrola = 19,2 mg/l; KPO = 19,5 mg/l).

Graf 5: Znázornění vykultivovaných bakteriálních druhů/rodů u jednotlivých skupin.





Tab. 17: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí > 10 %.

Skupina	Prevalence (%)		/ stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina sp.</i>		<i>Trichodina sp.</i>	<i>Dactylogyrus sp.</i>
Kontrola	50/1		70/1,4	90/1,8
KPO	30/1		20/1	50/1,2

• Test 2 - KPO

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 2865±576 g. Do pokusné napuštěné sádky byla aplikována KPO v dávce 1 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazeny ryby. Čtvrtý den od nasazení byla do sádky znovu aplikována KPO v dávce 1 mg/l. Pátý den (1 den po 2. aplikaci KPO) byly ryby odloveny, parazitologicky vyšetřeny a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbor. Teplota vody během testu byla 12±2°C.

Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tab. 18. U dvou kontrolních ryb byl na kůži zaznamenán ještě parazit *Ambiphrya sp.* a *Gyrodactylus sp.*

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u obou skupin téměř shodné (Kontrola = 17,6 mg/l; KPO = 16,8 mg/l).

Tab. 18: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí > 30 %.

Skupina	Prevalence (%)		/ stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	KŮŽE		ŽÁBRY	
	<i>Trichodina sp.</i>	<i>Dactylogyrus sp.</i>	<i>Trichodina sp.</i>	<i>Dactylogyrus sp.</i>
Kontrola	100/3	80/1	80/2,2	50/1
KPO	50/1,7	80/1	0/0	20/1

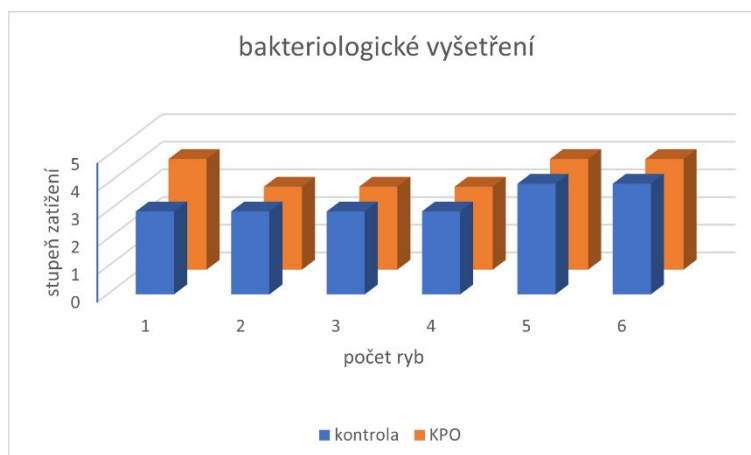
• Test 3 - KPO

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1393±298 g. Do pokusné napuštěné sádky byla aplikována KPO v dávce 1 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazeny ryby. Druhý den od nasazení byla do sádky znovu aplikována KPO v dávce 1 mg/l. Třetí den (1 den po 2. aplikaci KPO) byly ryby odloveny, parazitologicky a bakteriologicky vyšetřeny a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbor. Teplota vody během testu byla 10±1°C.

Výsledky semikvantitativního zhodnocení bakteriálních kolonií ze stěru kapra jsou znázorněny v grafu 6. U exponovaných ryb nebyly pozorovány významné rozdíly v porovnání s kontrolou.



Graf 6: Semikvantitativní bakteriologické vyšetření jednotlivých exponovaných a kontrolních ryb (n=6).



Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tabulce 19. Parazitologickým vyšetřením nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly infekce.

Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u obou skupin téměř shodné (Kontrola = 24,5 mg/l; KPO = 22,4 mg/l).

Tab. 19: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí ≥ 30 %.

Skupina	Prevalence (%)		stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)
	KŮŽE		ŽÁBRY
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Apiosoma</i> sp.	<i>Trichodina</i> sp.
Kontrola	30/1	30/2	100/1,8
KPO	0/0	0/0	70/1

3.4.2.3. Chlorové vápno

Test 1 – ChV

Průměrná hmotnost nasazených ryb byla 1260 ± 192 g. Do pokusné napuštěné sádky bylo aplikováno chlorové vápno v dávce 1,5 mg/l, druhá napuštěná sádka sloužila jako kontrolní. Následně byly do sádek nasazen ryby. Druhý den od nasazení byly ryby odloveny, parazitologicky vyšetřeny (10 ryb z každé skupiny) a byly odebrány vzorky vody pro hydrochemické rozbory. Teplota vody během testu byla $15 \pm 1^\circ\text{C}$.

Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tab. 20. Organické zatížení vody měřené prostřednictvím chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Mn}) bylo u pokusné skupiny nižší (Kontrola = 20,5 mg/l; ChV = 17,2 mg/l).



Tab. 20: Prevalence (%) a stupeň intenzity parazitární infekce (0-4) u vyšetřených skupin (n=10). Záznam infekcí s prevalencí ≥ 30 %.

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)	
	ŽÁBRY	
	<i>Trichodina</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.
Kontrola	30/2	30/1
ChV	0/0	20/1

3.5.3. Závěr

Aplikace Chloraminu T (20mg/l opakovaně v různých intervalech) způsobila jen mírný, statisticky nevýznamný pokles parazitárního zatížení ryb. Shodný trend u všech testů se projevil ve snížení infekčního zatížení parazitů *Trichodina* sp. na kůži i žábrách. Nebyl zaznamenán statisticky významný efekt na bakteriální osídlení kůže ryb. Organické zatížení vody se po aplikaci ChT vždy lehce snížilo. Všechny zjištěné rozdíly byly velmi mírné a protektivní efekt ošetřené vody tedy nebyl na podkladě testů dostatečně prokázán.

Aplikace KPO (1 mg/l opakovaně v různých intervalech) vedla k prokazatelné eliminaci parazitů *Trichodina* sp. na kůži i žábrách ryb. Rovněž došlo k snížení druhového bakteriálního zatížení (viz. graf 5), zatímco semikvantitativní bakteriální zatížení a organické zatížení vody se nelišilo od kontroly. Organické zatížení vody se u testovaných KPO skupin nelišilo od kontroly. V testech byl prokázán znatelný efekt na parazitární i bakteriální osídlení ryb.

Aplikace chlorového vápna (1,5 mg/l jednorázově) byla odzkoušena dodatečně (mimo naplánované pokusy) bez následných opakování. Vzhledem k nízké iniciální parazitární prevalenci nelze efektivitu ošetření zhodnotit.

4 Závěr

Prezentovaný projekt ověřoval účinnost a efektivitu desinfekčního ošetření vody chloraminem T, kyselinou peroctovou – KPO a dodatečně i chlorovým vápnem na potencionálně patogenní činitele ryb přítomné v zatíženém vodním prostředí.

Laboratorní testy prokázaly, že:

- i nízké koncentrace desinfekčních látek mohou vyvolávat zdravotní problémy a při ošetření vody s následným naskladněním ryb je vhodné tyto zbytkové koncentrace aplikovaných látek ověřit.



- aplikace desinfekčních látek v příslušných koncentracích do zatížené povrchové vody nemá výrazný vliv na její organické zatížení.
- **Chloramin T** v jednorázové dávce 20 mg/l mírně ovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má antiprotozoární efekt. Vliv na bakteriální zatížení ryb se neprokázal.
- **KPO** v opakované dávce 1 mg/l neovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má antiprotozoární a antibakteriální efekt.
- **Chlorové vápno** v jednorázové dávce 1,5 mg/l neovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má z vybraných látek nejvýraznější antibakteriální efekt.

Provozní testy prokázaly, že:

- **Chloramin T** (opakovaná aplikace 20mg/l)
 - působí jen mírný pokles parazitárního zatížení ryb – zejména protozoárních parazitů rodu *Trichodina* při vyšších teplotách vody.
 - nemá významný efekt na bakteriální osídlení kůže ryb.
 - mírně snižuje organické zatížení vody
- **KPO** (opakovaná aplikace 1mg/l)
 - působí statisticky významný pokles parazitárního zatížení kůže i žaber ryb – účinkuje na protozoární parazity rodu *Trichodina*.
 - snižuje druhové bakteriální zatížení ryb
 - nemá vliv na organické zatížení vody

DOPORUČENÉ DÁVKY

Na podkladě výsledků realizovaného projektu doporučujeme ošetření vody desinfekčními přípravky Chloramin T a KPO v chovech kapra obecného následovně:

Aplikace Chloraminu T jsou využitelné v rozmezí **20-30 mg/l**, a to v závislosti na organickém zatížení vodního prostředí (čím vyšší zatížení, tím vyšší dávka), teplotě vody (vyšší dávky do chladné vody) a ošetřované kategorii ryb (nižší dávky pro citlivější nižší věkové kategorie ryb). Výsledný efekt po přisazení ryb je zejména **ANTIPARAZITÁRNÍ** (působí na jednobuněčné parazity).

Aplikace KPO jsou využitelné v rozmezí **1-3 mg/l**, a to opět v závislosti na organickém zatížení vodního prostředí (čím vyšší zatížení, tím vyšší dávka), teplotě vody (vyšší dávky do chladné vody) a ošetřované kategorii ryb (nižší dávky pro citlivější nižší věkové kategorie ryb). Výsledný efekt po přisazení ryb je **ANTIPARAZITÁRNÍ** (působí na jednobuněčné parazity) i **ANTIBAKTERIÁLNÍ**.



5 Přílohy

5.1 Fotodokumentace k provedeným laboratorním a terénním testům



Obr. 1: Příprava ryb pro parazitární a bakteriologické vyšetření



Obr. 2: Příprava vzorků pro parazitární vyšetření ryb



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic



Obr.3: Příprava sádek pro terénní pokusy



Obr. 4: Akvária o objemu 300 l, v nichž probíhalo laboratorní testování.