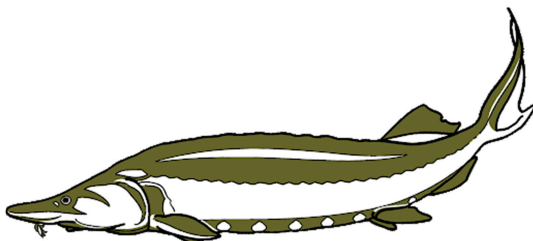




Sborník příspěvků z workshopu

# Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb

Petra Melezínková (ed.)



Sborník příspěvků z workshopu

## **Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb**

Editorka:

Petra Melezínková

**Poděkování:**

Workshop vznikl za finanční podpory projektu QK21010030  
„Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových  
možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb“.

**Editorka:**

Petra Melezínková

© Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

ISBN 978-80-7701-070-2

## **OBSAH**

<b>Abstrakt</b> .....	4
<b>První zkušenosti s liniemi pstruha duhového s genetickou výhodou v českém chovu</b> Marešová E., Halačka K., Papežíková I., Poštulková E., Procházková M., Mendel J. ....	5
<b>Možnosti detekce původců onemocnění v akvakultuře</b> Marešová E., Šindelka R., Halačka K., Mendel J. ....	14
<b>Genetické nástroje v chovech ryb – případové studie</b> Mendel J., Marešová E., Halačka K. ....	20
<b>Využití metagenomiky pro monitoring kvality vody a názkv v recirkulačních systémech</b> Mendel J., Marešová E., Halačka K. ....	27
<b>Eliminace bakteriálních patogenů ryb z vodního prostředí pomocí technologie CaviPlasma</b> Palíková M., Vaibarová V., Štáhel P., Čech J., Toullová I., Mikulíková I., Novotná H., Pikula J., Mendel J., Rudolf P., Maršálek B., Papežíková I. ....	38
<b>Technologie CaviPlasma jako nástroj pro eliminaci kořovce rybiho (<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>) v akvakulturních systémech</b> Toullová I., Papežíková I., Mikulíková I., Lepková Z., Palíková M. ....	44
<b>Jsou ryby nesoucí QTL pro rezistenci zárukou odolnosti vůči infekčním chorobám?</b> Papežíková I., Mikulíková I., Vaibarová V., Pojezdal L., Matějčíková K., Blahová J., Mendel J., Marešová E., Toullová I., Palíková M. ....	48
<b>Je možné ovlivnit zdravotní stav pstruha duhového krmnými aditivami?</b> Palíková M., Mareš J., Mikulíková I., Papežíková I., Lepková Z., Toullová I., Všetická L., Poštulková E. ....	56
<b>Vliv použitého krmiva a krmné strategie na nutriční hodnotu pstruha duhového</b> Mareš J., Poštulková E., .....	63

## Abstrakt

Workshop je zaměřen na mezioborovou diskusi vlivů globalizace, rozvoje moderních technologií a probíhající klimatické změny na chovný management lososovitých ryb, se zvláštním důrazem na pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Projekt staví na třech hlavních pilířích – zdravé prostředí, podpořená imunita a screening linií odolných k vybraným nemocem a usiluje o komplexní přístup ke zlepšení zdravotního stavu ryb, optimalizaci chovných podmínek a využití moderních biotechnologických metod pro identifikaci a šlechtění geneticky odolných linií. Cílem workshopu je formulovat doporučení pro udržitelný chovný management lososovitých druhů v kontextu měnících se environmentálních a socioekonomických podmínek a přispět tak k dlouhodobě udržitelnému rozvoji rybářství.

**Klíčová slova:** chov lososovitých ryb, zdraví ryb, imunita, klimatická změna, genetická odolnost, akvakultura, biotechnologie, udržitelnost

## První zkušenosti s liniemi pstruha duhového s genetickou výhodou v českém chovu

Marešová E.<sup>1</sup>, Halačka K.<sup>1</sup>, Papežíková I.<sup>2,3</sup>, Poštulková E.<sup>3</sup>,  
Procházka M.<sup>4</sup>, Mendel J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Květná 8, 603 00 Brno

<sup>2</sup>Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární  
hygieny a biologie, Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel,  
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>3</sup>Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav zoologie,  
rybářství a hydrobiologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno

<sup>4</sup>BioFish, s.r.o., Právníkov 29, 394 70 Kamenice nad Lipou

E-mail: [maresova@ivb.cz](mailto:maresova@ivb.cz), [halacka@ivb.cz](mailto:halacka@ivb.cz), [papezikovai@vful.cz](mailto:papezikovai@vful.cz),  
[mendel@ivb.cz](mailto:mendel@ivb.cz)

### Abstrakt

V letech 2022–2025 bylo v chovu pstruha duhového testováno pět linií různého původu, včetně dvou s geneticky šlechtěnou rezistencí k významným patogenům. Byly hodnoceny morfologické ukazatele, složení tkání, hematologické parametry a mortalita. Česká linie CZ-Hynčice vykázala nejlepší kondici, vyšší podíl energetických rezerv a stabilní růst napříč rokem. Italské linie měly nejnižší imunitní ukazatele a nejvyšší mortalitu. Dánské linie měly vyrovnané ukazatele, avšak jejich růst závisel na teplotě vody. Genetická rezistence u QTL linií se projevila jen mírně a nevedla k výrazně lepšímu přežívání v místních podmínkách. Výsledky potvrzují význam vhodné volby linie pro zdravotní stav i ekonomiku chovu a ukazují, že CZ-Hynčice je pro lokální podmínky nevhodnější.

### Úvod

V současných chovech lososovitých ryb působí velké ekonomické ztráty bakteriální a parazitická onemocnění. Častá aplikace léčebných látek má však negativní dopady na systém samotný (biofiltr, dysbalance chemického složení vody, rezidua chemických látek), ale také na kvalitu rybího masa, potažmo tedy na lidské zdraví. Proto je vhodné učinit spíše profylaktická opatření a vyhnout se tak nadbytečné aplikaci léčebných látek. Jedním z možných přístupů je cílené testování místních i zahraničních násad

a vyhodnocení jejich vhodnosti v národním měřítku vzhledem k předcházení nemocí a efektivitě chovu (poměr cena/mortalita).

K tomuto účelu bylo vybráno pět linií pstruha duhového, které byly nasaženy do otevřeného recirkulačním systému (RAS) firmy BioFish s.r.o v Pravíkově v kraji Vysočina. Přehled testovaných linií je uveden v Tab. 1. Linie byly hodnoceny morfometricky, byla provedena analýza a srovnání krevních buněk, sušiny a mortality, byly zaznamenány provozní informace pracovníků.

**Tab. 1:** Přehled testovaných linií mezi lety 2022-2025 na RAS v Pravíkově

Zkratka	Název linie	Původ	Popis linie
<b>It-dovoz</b>		Itálie	bez genetické rezistence, ale jeví se odolná vůči PKD
<b>It-vlastní</b>		Itálie	vlastní odchov v Pravíkově z italské linie It-dovoz
<b>CZ-Hynčice</b>	Hynčický pstruh	Česko	chovaná v pstruží líhni Hynčice v Královohradeckém kraji
<b>D-fresh</b>	Aquasearch FRESH	Dánsko	bez genetické výhody
<b>D-fla</b>	Aquasearch QTL RTFS	Dánsko	vznik z linie FRESH marker asistovanou selekcí s rezistencí k flavobakteriíze
<b>D-flaich</b>	Aquasearch QTL RTFS + ICH	Dánsko	vznik z linie FRESH marker asistovanou selekcí s rezistencí k flavobakteriíze a ichtyoftiriíze



**Obr. 1:** Pstruh duhový z dánské linie Aquasearch FRESH bez genetické výhody

## Materiál a metodika

Linie a jejich parametry byly hodnoceny v letech 2022-2025. Pro stanovení celkové kondice byly spočítány Fultonův a Clarkův index, a to pro 10 jedinců z každé skupiny. Analýza složení tkání (4 jedinci) a sušiny se prováděla u CZ-Hynčice a dvou dánských linií D-flaich a D-fresh. Organové vzorky byly připraveny jako směsný vzorek složený z orgánů 5 ryb a hodnoceny jako jeden reprezentativní vzorek na skupinu.

U žaber byly porovnány jejich základní morfologické parametry (počet primárních lamel a jejich výška; měřeno na prvním levém žaberním oblouku). Z počtu lamel a jejich průměrné velikosti byla vypočtena plocha. Porovnávány byly ryby z linií IT-dovoz, IT-vlastní, CZ-Hynčice, D-fresh a D-flaich.

Pro stanovení počtů erytrocytů a leukocytů (adaptivní imunity), pro přípravu krevních nátěrů a pro měření fagocytární aktivity (vrozená imunita) byla využita heparinizovaná krev. Krevní nátěry byly zhotoveny bezprostředně po odběru krve a po zaschnutí byly obarveny. Erytrocyty a leukocyty byly počítány manuálně v Bürkerově komůrce (Svobodová a kol., 2012). Diferenciální rozpočet leukocytů byl stanoven z obarvených krevních nátěrů (Piačková a kol., 2013); zjištěné procentuální zastoupení jednotlivých typů leukocytů bylo přepočítáno na absolutní počty. Fagocytární aktivita byla měřena chemiluminiscenčně (Papežíková a kol., 2016). Výsledky byly vyjádřeny jako peaky a integrály kinetických křivek. Byly porovnány skupiny ve dvou obdobích – duben 2024 (It-dovoz, It-vlastní a CZ-Hynčice) a únor 2025 (CZ-Hynčice, D-flaich, D-fresh).

Mortalita u jednotlivých linií byla hodnocena pomocí míry kumulativního (kolik jedinců přežilo/uhynulo od násady k určitému časovému bodu) a absolutního přežití (kolik jedinců přežilo/uhynulo v konkrétním čase). První srovnání mortality proběhlo v letech 2022–2023 u souběžně chovaných linií. Na RAS1 u linií It-vlastní, It-dovoz, D-fresh a D-fla, u linií D-fresh a D-fla také na RAS2. V druhém období mezi lety 2024–2025 byly na RAS1 souběžně nasazeny linie D-fresh, D-flaich a CZ-Hynčice. Počty uhynulých ryb byly spočítány z provozních listů zvláště pro RAS1 a RAS2, vždy pro linie chované souběžně ve stejném čase a na stejném systému, tj. za stejných podmínek prostředí.

## Výsledky a diskuse

### *Meristika a morfologie*

Celková délka (TL) ani délka těla (SL) se mezi jednotlivými skupinami pstruha duhového významně nelišily a hodnoty se pohybovaly v podobném rozmezí. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán u výšky těla a indexů vysokohřbetosti a širokohřbetosti, kde skupina CZ-Hynčice vykazovala vyšší hodnoty než dovozové linie. Podobný trend se projevil také ve Fultonově a Clarkově kondičním faktoru, kde ryby linie CZ-Hynčic dosahovaly významně vyšších hodnot. Celé tělo ryb z Hynčic mělo vyšší podíl sušiny i tuku než ryby z dovozových linií, což ukazuje na vyšší zásoby energetických rezerv. U svaloviny byly hodnoty sušiny a tuku u linie CZ-Hynčice číselně vyšší než u dovozových linií, rozdíly však nebyly statisticky průkazné, i když trend byl zřejmý. Rozdíly jsou patrné také u orgánů, především ve vnitřnostech, kde linie z Hynčic obsahovala podstatně více tuku (více než 50 %) oproti dovozovým liniím (přibližně 33 %). V játrech byly rozdíly méně výrazné. Obsah popela (minerálních látek) se mezi skupinami významně nelišil, což naznačuje stabilní mineralizaci tkání. Dusíkaté látky (bílkoviny) ve svalovině vykazovaly pouze menší rozdíly a zůstaly relativně stabilní, což ukazuje na to, že podíl bílkovinné složky není mezi liniemi výrazně ovlivněn. Uvedená data tedy ukazují na lepší kondici a robustnější tělesnou stavbu u ryb z Hynčic oproti dovozovým liniím. U analýzy žaber byla plocha lamel přepočtená na hmotnost u CZ-Hynčice vyšší než u linií z Dánska. Hodnoty české linie vůči liniím italským byly podobné.

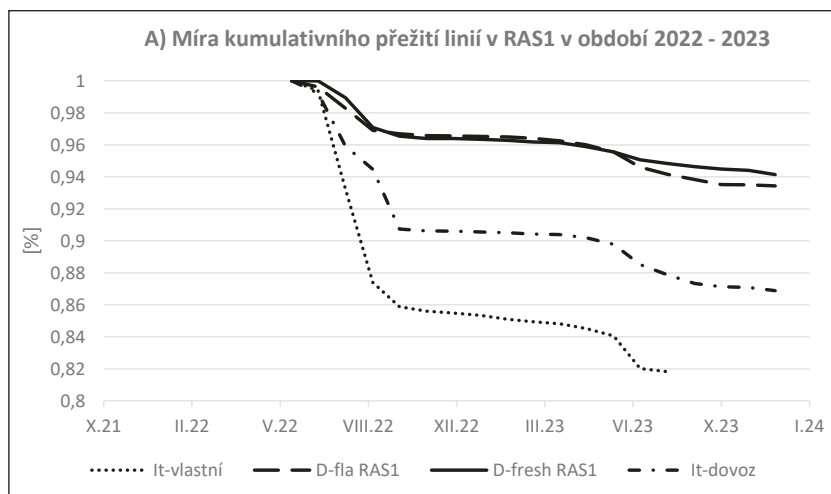
### *Hematologie*

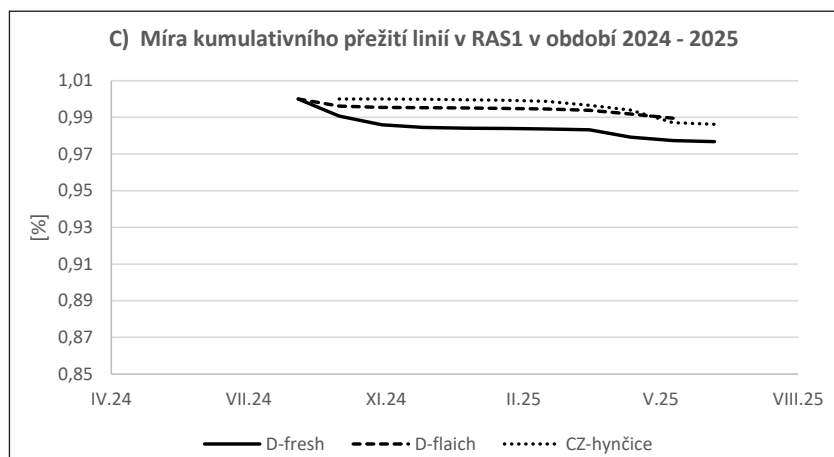
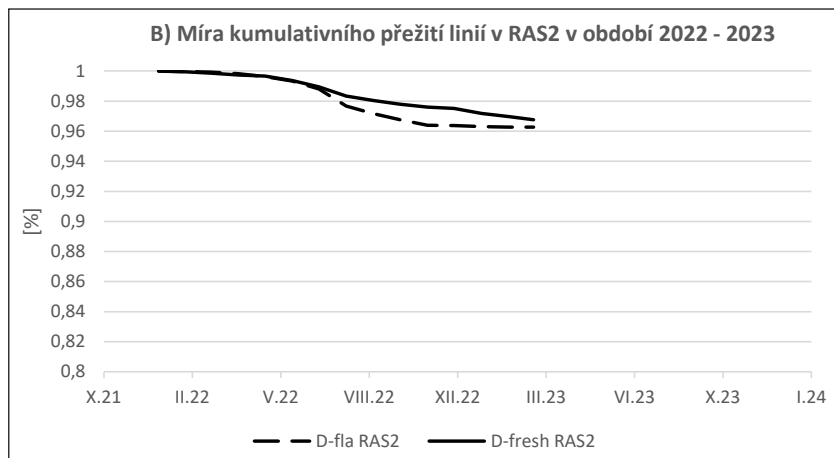
U linie CZ-Hynčice byly zjištěny významně vyšší počty leukocytů i rozdíly v parametrech diferenciálního rozpočtu leukocytů. U procentuálního zastoupení lymfocytů měla statisticky nejnižší hodnoty linie It-vlastní. Mezi liniemi dánskými a českou nebyly zjištěny významné rozdíly v celkových počtech leukocytů, v procentuálním zastoupení jednotlivých typů leukocytů ani v jejich absolutních počtech. Také procentuální zastoupení a počty fagocytů (neutrofilů + monocytů) byly bez významných rozdílů. Počty erytrocytů byly bez statisticky významných rozdílů. Italská linie proti linii Hynčice i dánským liniím vykazuje nižší úroveň klíčových imunitních parametrů adaptivní imunity. Funkční parametry vrozené imunity – hodnocené jako fagocytární aktivita – byly obecně srovnatelné mezi všemi liniemi. Nebyly nalezeny rozdíly v celkové fagocytární aktivitě vzorků ani v rychlosti nástupu reakce (peak-time). Po přepočtu na 1000 fagocytů se mezi dánskými

liniemi objevily menší, ale statisticky významné rozdíly v integrálu a peaku (maximální hodnota) u linie D-fresh, kde byly vyšší. D-flaich může být celkově méně aktivní fagocytárně, ale přesto odolnější vůči cílovým patogenům.

### Mortalita

Z grafu A, B a C na Obr. 2 je patrné, že u obou italských linií (It-dovoz a It-vlastní) je nejvyšší mortalita jedinců. A to především u linie It-vlastní. Rozdíl mezi italskými a dánskými je cca 6 %. Všechny ostatní linie chované v jednom období na stejném RAS se mezi sebou v úmrtnosti významně nelišily (do 2 %). Uvedená mortalita linií byla podpořena provedenými hematologickými analýzami i meristickými daty. V pozorovaném období let 2022 a 2023 se odlišnost uvedených dánských linií nemohla projevit, jelikož se na systémech potýkali s nákazou Aeromonádami a *I. multifilis* (v období července a srpna), což je patrné na křivkách absolutního přežití (výrazný pokles početnosti) u Obr. 3A–C. V dalším období let 2024–2025 místo italské linie vstoupily do srovnání linie česká a linie s kombinovanou rezistencí D-flaich. V tomto roce došlo na podzim 2024 a na jaře 2025 k nákaze kožovce i bakteriemi, na Obr. 3C patrné jako píky v grafu. Zde se projevila mírná odlišnost úmrtnosti u linií D-flaich a bez rezistence D-fresh (Obr. 2C), vyjádřeno v % je to ovšem jen 1,5 % rozdíl. Dobře si vedla i CZ-Hynčice, která měla celkové úhyny ještě nepatrně nižší oproti D-flaich. Tento rozdíl ovšem může být způsobem nákupem české linie v juvenilním stadiu, ostatní linie jsou zasílány jako jikry v očních bodech a pak rozkrmovány v místních podmínkách.





**Obr. 2:** Křivky kumulativního přežití v systémech v obou porovnávaných obdobích

## Zkušenosti z provozu

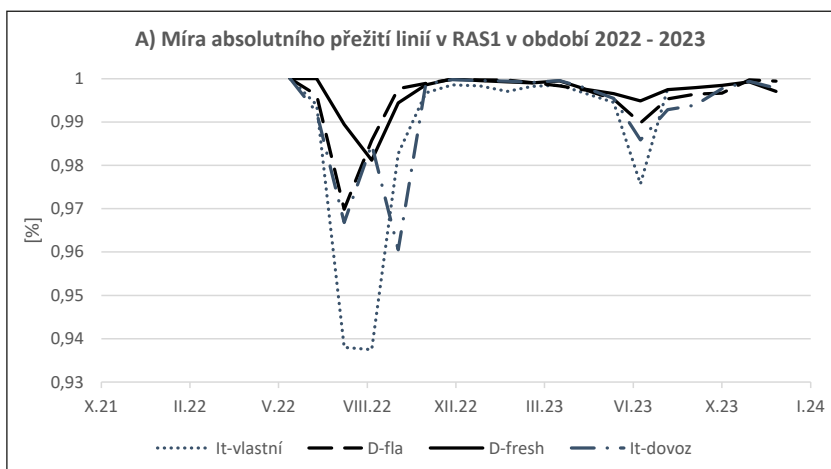
U nově testovaných linií z Dánska byli pracovníci z provozu dotazováni na praktické zkušenosti v rámci chovu. Všechny dánské linie jsou dováženy v očních bodech ve velmi dobrém stavu, do kulení i po vykulení s minimálními ztrátami. Vykulení jedinci jsou vitální, s velmi malým procentem deformovaných kusů. Rozkrmění a následná první fáze růstu (do několika gramů) byla zcela bezproblémová. Italská a česká linie je dova již ve stádiu juvenilů.

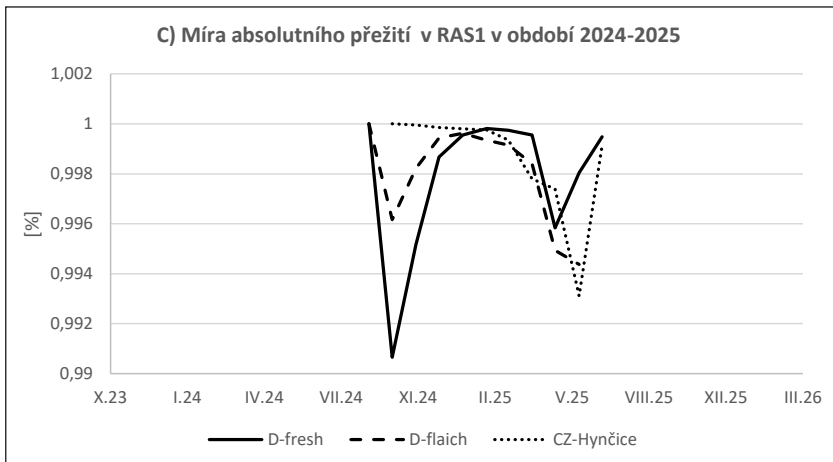
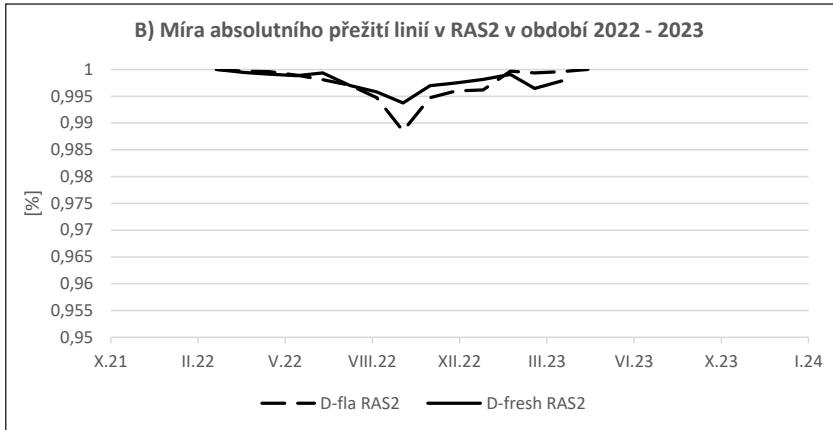
Dánské linie vykazovaly nejlepší růst v jarním a podzimním období, kdy teploty vody dosahovaly pro ně optimálního rozmezí 7–15 °C. Ve zbylých částech roku (zima, léto) méně přijímaly potravu a růst byl ve srovnání se souběžně chovanými liniemi pomalejší. Naopak ve finální fázi růstu dánské linie vykazovaly oproti ostatním větší tendenci k rozrůstání. Linie česká vykazovala stabilní růst v průběhu celého roku.

U všech dánských linií v tržní velikosti (do 0,55 kg) ryby nenasazovaly pohlavní produkty (mlíčí, jikru) nebo ve velice malém množství a neprobíhaly u nich hormonální změny (např. nežravost v době tření), v důsledku toho pak nepřicházely o výtěžnost.

## Závěr

V rybářství BioFish s.r.o v Pravíkově bylo testováno pět linií různého původu, mezi nimi i dvě linie s geneticky šlechtěnou rezistencí (k flavobakterióze a ichtyoftirióze). U linií byly zhodnoceny morfologické parametry. Celkové složení tkání ukázalo na robustnější tělesnou stavbu a lepší kondici u CZ-Hynčice. Stanovené hematologické parametry jako obraz vrozené (fagocytární aktivita) a adaptivní imunity (analýza bílých krvinek) ukázaly, že genetická linie má významný vliv zejména na adaptivní složku imunity. Italské linie vykazovaly významně nižší imunitní ukazatele, oproti linií CZ-Hynčice, a proto také vysokou mortalitu v chovném zařízení. Mezi linií českou a dánskými byly nalezeny statisticky významně odlišné hodnoty pouze u D-fresh. Dobrou adaptivní imunitu potvrzuje i nízká mortalita české a dánských linií oproti liniím italským. V místních podmínkách Vysočiny





**Obr. 3:** Křivky absolutního přežití v systémech v obou porovnávaných obdobích. Píky reprezentují náhlý pokles početnosti, tedy nákazu v daném období

se kromě italské linie, jeví všechny ostatní testované linie podobně a nebyl zjištěn významný rozdíl v přežití/mortalitě u QTL linií. Česká linie měla navíc výhodu stabilního růstu v průběhu celého roku a také z hlediska preferen- ce místních zdrojů.

## Poděkování

Studie vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK21010030 Globali- zace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb.

## Literatura

- Papežíková, I., Mareš, J., Vojtek, L., Hyršl, P., Marková, Z., Šimková, A., Bartoňková, J., Navrátil, S., Palíková, M. 2016. Seasonal changes in immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and brook trout × Arctic charr hybrids (*Salvelinus fontinalis* × *Salvelinus alpinus*). *Fish and Shellfish Immunology* 57, 400–405. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.048>.
- Piačková, V., Palíková, M., Zusková, E., Flajšhans, M. 2013. Stanovení diferenciálního počtu leukocytů ryb. Edice metodik, č. 160, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 68 s.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Modrá, H. 2012. Metody hematologického vyšetřování ryb. Edice metodik, č. 122, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 38 s.

## Možnosti detekce původců onemocnění v akvakultuře

Marešová E.<sup>1</sup>, Šindelka R.<sup>2</sup>, Halačka K.<sup>1</sup>, Mendel J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Květná 8, 603 00 Brno

<sup>2</sup>BIOCEV, Průmyslová 595, 252 50 Vestec

**E-mail:** maresova@ivb.cz, halacka@ivb.cz, radek.sindelka@ibt.cas.cz,  
mendel@ivb.cz

### Abstrakt

Včasná detekce patogenů je zásadní pro prevenci onemocnění v akvakultuře. Cílem studie bylo vyvinout jednoduchý a spolehlivý postup pro identifikaci bakteriálních a parazitárních původců onemocnění přímo z vodního prostředí. Testovali jsme přímý odběr vody a nanofiltraci v celosezónním monitoringu různých vodních zdrojů a dvou recirkulačních systémů. Nanofiltrace prokázala vyšší citlivost a umožnila časnější záchyt patogenů. Na základě optimalizace metody byly vytvořeny diagnostické RT-qPCR kity pro pět patogenů, které jsou již komerčně dostupné. Ověření v praxi umožnilo identifikovat rizikové zdroje vody, upravit chovný management a snížit ztráty způsobené infekcemi. Metoda poskytuje účinný nástroj pro včasnou prevenci v moderních RAS.

### Úvod

Rychlá a přesná diagnostika původců onemocnění je v rybářských chovech zásadní. Pomůže zacílit účinně preventivní opatření a tím snížit riziko propuknutí a šíření chorob (Asefa a Abunna 2018; Moreira et al. 2021). Většina současných postupů závisí na vyšetřování nemocných ryb, tedy na situaci, kdy už infekce propukla a hrozí vážné ekonomické ztráty. Naším cílem bylo připravit spolehlivý pracovní postup pro rychlou detekci a kvantifikaci patogenů ve vodním prostředí bez potřeby složitých izolačních či kultivačních postupů. U managementu monitorovacích procesů je nezbytné prověřit stávající a nastavit nové preventivní (monitorovací) a varovné (ochranné) systémy v chovném managementu i s pomocí nejmodernějších molekulárních a genomických metod.

Využili jsme RT-qPCR (kvantitativní PCR) jako citlivou a specifickou metodu pro detekci a stanovení množství DNA patogenů několika původců onemocnění (bakteriálních i parazitárních) z vodního prostředí nebo

z jednoduše připravených vzorků (neinvazivní stěr z kůže, vodní filtry, vybrané rybí tkáně). Zaměřili jsme se na celosezónní monitoring s cílem identifikovat riziková období. Tyto informace jsou důležité jak pro management vodních zdrojů na farmách, tak mohou sloužit jako předpověď pro následující roky. Výsledkem je tedy možnost soustředit monitorovací úsilí na vybraná, vysoce riziková období a optimalizovat tak využití zdrojů z hlediska ekonomického.

Srovnávací analýza diagnostických přístupů byla provedena s využitím pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), a to díky jeho širokému využití v akvakultuře a dobře zdokumentované náchylnosti k různým bakteriálním a virovým patogenům. Monitoring probíhal na dvou otevřených recirkulačních systémech (RAS1 a RAS2).

## Materiál a metodika

### Odběr vody a nanofiltrace

Celkem bylo testováno šestnáct odběrových míst 1–2x/měsíc, včetně tří míst v každé ze dvou jednotek RAS (vstup a výstup systému, biofiltr) a deset vodních zdrojů využívaných pro tyto systémy (rybníky, hlubinné vrty, povrchové vodní zdroje). Environmentální RNA (eRNA) patogenů byla analyzována pomocí dvou odběrových přístupů pro každý vodní zdroj:



**Obr. 1:** Části filtrační soupravy vlastní konstrukce na nanofiltraci vody s použitím nanofiltru



**Obr. 2:** Filtrace vody s délkově upravenou vytláčovací pistolí a kruhovými výseky nanofiltru

- a) 50 mL vody bylo odebráno do Falcon zkumavek a okamžitě zmrazeno,
- b) 150 mL vody bylo přefiltrováno pomocí sady pro odběr na filtraci vzorků vody (Obr. 1, Obr. 2), který je chráněn jako užitiný vzor Halačka a Mendel (2023)

Celý proces filtrace byl proveden technologií popsanou v ověřené technologii Halačka a Mendel (2024), která byla vyvinuta speciálně pro záchyt patogenů s následnou genetickou analýzou. Všechny vodní vzorky/filtry byly transportovány na suchém ledu a po doručení do laboratoře skladovány při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po dokončení odběrů byla provedena přímá kvantifikace patogenů.

### *Analýza nanofiltrů a tkání v laboratoři*

Po rozmrazení filtru byla centrální část (asi  $1\text{ cm}^2$ ) vyříznuta a přenesena do Eppendorfovy zkumavky s 1 ml vody bez nukleáz. Vzorky byly inkubovány 10 minut při  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  a poté promíchány vortexem. Druhá inkubace proběhla 20 minut při pokojové teplotě za použití Mini-rocker Shakeru. Následně byly vzorky uloženy při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pro případné další analýzy.

Pro analýzu tkání byly odebrány slezina a játra ze čtyř kusů ryb a ihned uloženy na led. V laboratoři byla izolována RNA pomocí TRIzol™ metody a následně uložena do  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### *Reverzní transkripce a qPCR (RT-qPCR)*

Izolovaná RNA nebo eRNA byla převedena na komplementární DNA (cDNA) pomocí reverzní transkripce (RT). RT byla připravena s použitím 22  $\mu\text{l}$  vzorku vody (odebrané přímo z 50 ml zkumavky nebo z vody po inkubaci filtru) nebo 1  $\mu\text{g}$  RNA z tkání do celkového objemu 30  $\mu\text{l}$ . Z RT reakce bylo pak odebráno 2  $\mu\text{l}$  vzorku do reakční směsi qPCR.

## **Výsledky a diskuse**

Ze dvou aplikovaných odběrových přístupů ve vodních vzorcích, tj. odběr samotné vody vs. nanofiltrace, se ukázala nanofiltrace jako citlivější metoda, u které dochází k včasnějšímu záchytu patogenů. Současně se u obou přístupů ukázalo použití reverzní transkripce jako zásadní. Analýza tkání je samozřejmě nejcitlivější metodou, protože probíhá přímo z izolované RNA. Zde je ovšem nutné usmrcení ryby a záchyt patogenů se tak provádí spíše pro potvrzení diagnózy.

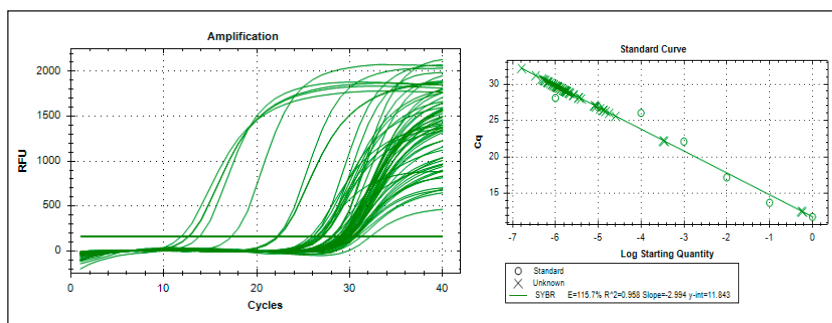
Výsledkem testování různých typů filtrace a různých postupů detekce je několik aplikovaných výstupů (Obr. 3): užitiný vzor Halačka a Mendel (2023), ověřená technologie Halačka a Mendel (2024) a funkční vzorky jako

RT-qPCR kity pro detekci patogenů (Šindelka and Mendel 2022a, b). Všechny tyto kity jsou komerčně k objednání na stránkách softwaru [www.s7i-fish.ivb.cz](http://www.s7i-fish.ivb.cz) (Mendel et al. 2020), kde je nyní dostupných pět kitů k detekci *Aeromonas* spp., *Flavobacterium psychrophilum*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Tetracapsuloides bryosalmonae* a *Lactococcus muntifilis*.

Výše uvedený způsob detekce již byl prakticky testován v několika provozech. V systému, jež dlouhodobě monitorujeme, jsme identifikovali rizikové vodní zdroje, tedy ty, kde se vyskytuje nejvíce potenciálních patogenů (Obr. 4). Na základě těchto poznatků producent ryb upravil správu vody (vyhýbáním se znečištěným vodním zdrojům) a zavedl preventivní úpravu vody během rizikových měsíců v následujícím roce, čímž snížil ztráty způsobené *Flavobacterium psychrophilum* na méně než 30 % ve srovnání



**Obr. 3:** Aplikované výstupy z monitoringu, RT-qPCR kity jsou komerčně dostupné na stránkách [www.s7iFish.ivb.cz](http://www.s7iFish.ivb.cz)



**Obr. 4:** Amplifikační křivky qPCR reakce, kde každá křivka odpovídá jednomu odběrovému místu, tj. zdroji vody nebo místu v RAS. Čím je nižší hodnota cyklu, tím je vyšší koncentrace patogenu ve vzorku. Vedle standardní křivka, kdy každý křížek představuje jeden vzorek. Uvedená analýza zobrazuje množství *F. psychrophilum* ve vodách a v systému v den odběru 15. května 2024.

s předchozími roky. V jiném provozu byla naše metodika použita po propuknutí onemocnění způsobené *Ichthyophthirius multifiliis* pro sledování účinnosti léčby pomocí technologie caviplazmy.

## Závěr

Vyvinuli jsme robustní a snadno osvojitelný pracovní postup pro detekci a kvantifikaci rybích patogenů. Jako nejvhodnější metoda detekce patogenů z vodního prostředí se ukázala nanofiltrace vody s následnou RT-qPCR. Na základě tohoto postupu byly vyvinuty funkční vzorky RT-qPCR kity pro pět patogenů ryb, které jsou komerčně dostupné na stránkách [s7iFish.ivb.cz](https://s7iFish.ivb.cz). Tato metoda již byla úspěšně použita pro management vody během rizikových měsíců v monitorovaném RAS, či ke sledování úspěšnosti léčby technologie caviplazmy. To naznačuje možnost zavedení našeho detekčního pracovního postupu do moderních RAS a potenciálně snížení ztrát způsobených propuknutím chorob.

## Poděkování

Studie vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK21010030 Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb.

## Literatura

- Assefa, A. & Abunna, F. 2018. Maintenance of Fish Health in Aquaculture: Review of Epidemiological Approaches for Prevention and Control of Infectious Disease of Fish. *Veterinary Medicine International* vol. 2018 Preprint at <https://doi.org/10.1155/2018/5432497>.
- Halačka K. and Mendel J. 2023. CZ 37354 U1 – Souprava pro odběr a filtraci vzorků vody. Ústav biologie obratlovců, AV ČR, v.v.i, Užitiný vzor: 14 str.
- Halačka K. and Mendel J. 2024. Využití technologie nanovlákných filtrů k detekci patogenů v chovech ryb. Ústav biologie obratlovců, AV ČR, v.v.i, Technologie 2024, ISBN 978-80-87189-46-7, 15 str.
- Mendel J., Marešová E., Vetešník L. and Halačka K. 2020. S7iFish: web aplikace pro identifikaci ryb a monitoring mikrobiální diverzity v přírodě a akvakultuře.
- Moreira, M. et al. 2021. Fish pathology research and diagnosis in aquaculture of farmed fish; a proteomics perspective. *Animals* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ani11010125>.

Šindelka R. and Mendel J 2022a. Diagnostická soupravaRT-qPCR FLAVident na detekci a kvantifikaci *Flavobacterium psychrophilum* ve vzorcích vody. Ústav biologie obratlovců, AV ČR, v.v.i, funkční vzorek 15/2022, ISBN 978-80-87189-36-8, 12 str.

Šindelka R. and Mendel J. 2022 b. Diagnostická soupravaRT-qPCR TETRACAPSident na detekci a kvantifikaci *Tetracapsuloides bryosalmoniae* ve vzorcích vody, tkání a kožních stěrů. Ústav biologie obratlovců, AV ČR, v.v.i, funkční vzorek 17/2022, ISBN 978-80-87189-38-2, 12 str.

## Genetické nástroje v chovech ryb – případové studie

Mendel J., Marešová E., Halačka K.

*Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Centrum aplikované  
zoologie, Květná 8, 603 00 Brno*

E-mail: [jmendel@seznam.cz](mailto:jmendel@seznam.cz)

### Abstrakt

Centrum aplikované zoologie Ústavu biologie obratlovců AV ČR pomáhá řešit otázky týkající se sladkovodních ryb volných vod, rybníků, vodních nádrží a chovatelských zařízení. Centrum je vědecko-aplikační platformou, která reflektuje současné potřeby společnosti a nabízí neotřelá řešení v úzké součinnosti se soukromým sektorem, akademickou a státní sférou. Snaží se reagovat komplexně i cíleně na vědecky aktuální a společensky důležité výzvy 21. stol. Poskytuje genetický servis v rozličných oblastech: chovatelský management, ochrana přírody, průkaz pravosti a falšování rybích komodit. Profesionalitu vědeckého týmu odráží nespočet realizovaných projektů a desítky aplikovaných výstupů - patenty, ověřené technologie, certifikované metodiky, užité vzory, identifikační software, atd. Centrum zpřístupňuje nejnovější poznatky a metody pro chovatele i ochránáře a nabízí rozmanité služby odborné i laické veřejnosti: identifikační genetika (druh/jedinec/linie/hybrid/pohlaví, populační studie, parentita, analýza unikátnosti v rámci územního celku/ČR/Evropy, atd.), monitoring kvality vodních zdrojů v sezónní dynamice, monitoring žádoucích i patogenních mikroorganismů a parazitů, posouzení efektivity preventivně-léčebných postupů, monitoring pestrosti a diferenciací chovaných zdrojů i inbrídingu, monitoring zdravotního stavu chovu na pozadí populačně-genetických parametrů, servis pro rybářské hospodaření – druhová čistota, genotypizace jedinců pro párový výtěr, vhodnost zdroje pro obnovu kmenového hejna, ověření přítomnost/nepřítomnosti 3n jedinců a celosamíčích populací, genetické podpoření regionální značky atd. Centrum vyvíjí vlastní komerční soupravy a nabízí tři produktové řady: S7i, STR a qPCR. Nabízí pronájem privátní on-line zóny pro vedení genetické historie chovu a kontroly chovaného zdroje v rámci S7iFish webová aplikace – unikátního systému založeném na evropském patentu s rozsáhlou referenční databází druhů. Na několika příkladech z praxe je demonstrována užitečnost rozličných molekulárně-genetických nástrojů nejen pro chovatele.

## Úvod

V rámci projektu Zvýšení a zefektivnění produkce lososovitých ryb v ČR s využitím jejich genetické identifikace (2015-2018) jsme na workshopu rozdávali chovatelům dotazník se 17 otázkami týkajícími se využívání genetiky a molekulárně-biologických přístupů pro chov sladkovodních ryb. Snažili jsme se zmapovat zkušenosti a přání chovatelů v ČR i SR. S odstupem 10 let můžeme říct, že jsme společně ušli kus cesty a mnohé se změnilo. Ale stále platí, může být lépe. Příspěvek níže poskytuje jen malý výsek toho, co naše Centrum aplikované zoologie při UBO AV ČR realizovalo v posledních 3 letech a jaké produkty a služby nabízí našim chovatelům a ochranářskému managementu.

## Materiál a metodika

Jedná se o produkty a metodiky, které jsou know-how Centra aplikované zoologie (CAZ) Ústavu biologie obratlovců AV ČR a jsou poskytovány veřejnosti na platformě S7iFish v sekci „Objednat službu“ (Order service) na adrese: <https://s7ifish.ivb.cz/>



## Výsledky a diskuse

Centrum aplikované zoologie (CAZ) provádí pro chovatele ryb mimo jiné tyto expertízy a služby:

**1) Identifikační analýzy** (čistota plemene/linie, populace, druh, kříženec, pohlaví, ploidie)

*Případová studie A* – Zjištění aktuálního rozšíření, mikrohabitatových preferencí a odhad stavu populace hrouzka banátského (*Romanogobio banaticus*) na dvou EVL Bečva – Žebračka a Morava – Chropyňský luh. (Zadavatel: AOPK, 2025)

Objekt: *Romanogobio banaticus* (Banarescu, 1960): KO; EVD; CR (Obr. 1)  
Výsledek: Analyzováno 132 jedinců a na EVL Bečva potvrzen výskyt čistého druhu hrouzka banátského pouze v 7 případech a ve formě kříženců s hrouzkem Vladykovým v 10 případech. Na EVL Morava nebyl potvrzen žádný čistý druh hrouzka banátského a 9 kříženců s hrouzkem Vladykovým. Velmi špatný výsledek, který volá po urychleném řešení.



Obr. 1: Hrouzek banátský

**2) Monitorovací analýzy** (přítomnost druhu/linie/populace, diverzity a variability, integrity chovu, efektivity prevence a léčby, užitečnosti technologie, míry ohrožení, míry a kontroly příbuzenského křížení, kvality a vhodnosti vodního zdroje)

*Případová studie B – Genetické analýzy vzorků ryb karase obecného (Carassius carassius). Analýza typu A: potvrzení druhové čistoty – 179 vzorků/9 populací*

V/σ*	11	13	15	18	20	23	24	32	34	42	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	
1	4,25	2,00	3,25	2,00	2,75	3,25	4,25	3,50	3,25	3,00	2,50	3,25	3,00	2,25	3,75	4,00	3,00	2,75	2,75	3,75	3,50	4,00	3,75	4,75	3,00	4,00	3,75	2,50	3,25	3,25	
2	3,50	2,00	3,25	2,25	3,25	3,25	4,00	4,00	3,00	3,50	2,50	3,25	2,75	2,50	3,25	3,75	3,25	2,00	3,00	3,75	3,50	3,50	3,75	4,50	4,00	4,00	4,00	2,75	3,50	3,50	
3	2,75	2,75	3,25	2,25	2,25	3,00	3,00	3,50	2,75	2,75	2,00	3,25	3,25	2,00	3,00	3,75	3,00	2,50	3,00	3,00	3,25	3,50	3,50	4,25	2,50	3,50	2,50	3,50	4,25	3,00	
4	2,00	2,75	2,75	3,50	2,50	3,75	2,00	2,25	2,25	2,50	2,25	2,50	1,75	2,50	3,25	2,50	2,25	2,25	2,25	3,25	2,00	2,50	2,75	1,50	2,50	1,50	2,50	3,00	2,00	2,00	
5	3,25	1,75	2,75	2,00	2,50	2,50	3,50	3,00	2,75	2,50	2,00	3,25	3,00	2,00	3,25	3,25	2,50	2,00	2,25	2,25	2,75	3,00	3,25	3,75	2,50	3,25	2,50	3,25	2,75	3,00	
6	2,50	2,25	2,75	3,25	3,50	3,75	2,50	4,00	2,00	4,00	3,00	3,25	3,00	2,50	2,75	3,00	3,00	2,75	3,25	2,75	3,50	2,25	3,00	3,75	4,00	4,50	4,00	4,50	3,25	3,00	
7	1,75	2,00	1,75	2,00	1,00	1,50	1,75	1,25	2,50	1,25	2,25	1,50	1,25	2,25	1,75	2,00	1,75	1,50	2,00	1,75	1,25	1,75	1,50	1,50	1,75	1,50	1,75	1,50	2,00	1,00	
8	3,50	2,25	3,50	2,75	2,00	3,25	3,25	3,00	3,25	3,00	2,00	3,50	3,00	2,00	3,50	3,25	2,75	3,50	3,25	2,75	3,50	3,75	3,50	4,25	2,50	4,50	2,50	4,50	3,75	2,75	
9	3,50	1,00	2,50	1,50	2,75	2,75	3,00	3,50	2,50	4,00	2,00	2,75	2,50	2,50	2,50	2,25	2,25	2,25	2,00	2,75	3,25	2,75	3,25	4,00	4,25	3,75	4,25	3,75	2,50	4,00	
10	2,25	1,50	2,50	1,50	2,50	2,25	2,25	1,75	1,50	2,75	1,50	2,50	2,00	2,00	2,00	1,75	2,00	2,25	1,75	2,00	2,50	2,00	2,50	2,25	3,50	2,50	3,25	2,50	2,50	3,50	
12	2,25	3,00	2,25	2,50	3,00	2,50	3,25	2,25	2,50	1,25	3,00	2,75	3,25	1,25	3,00	4,75	2,00	1,50	2,25	2,50	1,50	2,75	1,75	2,75	1,25	1,75	1,25	1,75	2,50	1,25	
14	3,25	2,25	3,50	2,75	3,00	3,75	3,75	4,00	3,25	4,00	2,75	3,25	2,50	2,75	3,25	3,50	3,50	2,25	3,50	3,50	4,00	3,25	3,75	4,50	4,00	4,25	4,00	4,25	3,75	3,25	
16	2,75	2,25	2,50	1,75	2,50	2,75	2,75	3,75	2,00	1,75	1,75	3,00	3,25	2,00	3,00	4,00	3,00	1,75	2,25	2,75	2,25	3,50	2,75	3,75	2,00	2,75	2,00	2,75	3,50	2,50	
17	2,75	3,00	3,75	2,75	3,25	3,75	3,25	3,75	3,50	3,25	2,50	3,25	2,25	2,50	3,25	3,75	3,50	1,50	3,50	3,75	3,75	3,50	4,00	4,00	3,75	3,50	3,75	3,50	3,75	2,75	
19	2,25	2,50	2,00	2,50	3,25	3,00	2,50	2,00	2,00	1,00	3,00	2,25	3,25	1,50	2,50	3,00	4,00	2,25	1,00	2,50	1,75	1,75	2,50	1,50	2,50	1,50	1,50	1,50	1,25	2,25	
21	2,25	1,75	3,00	1,50	2,25	3,25	2,50	3,25	1,75	4,00	1,75	2,50	2,00	2,25	2,00	1,75	2,50	3,25	2,50	2,00	3,50	1,75	2,75	4,00	3,75	3,50	3,25	3,50	3,25	3,50	
22	2,50	1,50	1,00	2,50	4,00	2,50	2,00	1,75	1,00	1,75	2,50	1,75	2,75	1,75	2,25	3,25	2,00	1,00	2,50	1,50	2,50	1,50	2,00	1,50	2,00	2,25	1,50	2,25	1,50	2,75	2,75
23	3,00	2,25	1,75	3,50	3,50	2,50	2,75	1,75	2,25	1,00	3,00	2,00	3,25	1,25	3,00	4,50	2,00	0,75	2,50	3,00	1,50	1,75	1,50	2,00	1,50	1,00	1,50	1,50	1,50	1,75	
26	3,75	1,50	3,25	2,50	3,25	3,00	3,50	3,75	3,25	3,75	2,75	3,50	2,50	2,75	3,50	3,25	3,25	2,75	3,50	3,25	2,75	3,00	3,25	4,25	4,25	4,00	4,25	4,00	3,00	3,75	
27	4,25	1,25	2,50	1,50	2,25	2,75	3,50	3,25	2,25	3,00	1,75	3,00	2,75	2,00	3,25	2,50	2,50	3,25	2,25	3,00	3,25	2,75	4,25	3,00	4,25	3,00	4,25	4,25	2,50	3,50	
28	2,25	2,75	2,00	2,75	3,25	2,25	2,00	2,75	1,75	1,25	3,25	3,25	3,50	2,25	3,25	4,00	2,50	1,50	2,00	2,00	1,50	2,00	2,25	3,00	2,50	2,50	2,50	2,50	2,75	2,75	
29	2,75	2,25	2,25	2,75	3,75	3,25	2,50	2,75	1,75	2,25	3,00	3,25	4,00	1,75	3,25	4,50	2,50	2,00	2,75	2,50	2,50	2,75	2,50	3,75	2,50	3,00	2,50	3,00	3,00	2,75	
30	3,75	1,50	2,75	1,25	2,75	2,75	3,25	3,00	2,50	2,50	1,50	2,75	2,25	2,00	3,25	2,75	2,75	2,00	2,50	2,75	3,00	3,25	4,00	3,25	4,00	3,25	3,00	3,25	3,00	2,50	2,50
31	3,75	1,25	2,50	1,75	2,50	2,25	3,00	2,75	2,50	2,25	1,50	2,50	2,50	1,75	3,25	2,25	2,75	2,75	2,00	3,00	3,25	3,00	3,25	4,00	3,25	3,00	3,25	3,50	3,50	2,00	3,25
33	3,25	2,75	3,00	3,25	3,50	2,75	3,50	3,50	3,50	2,00	3,50	3,25	2,75	2,25	4,25	4,50	3,00	1,50	2,75	3,50	2,50	3,00	2,75	3,75	3,50	3,25	3,00	3,00	2,75	2,00	
35	2,75	2,50	3,25	3,25	3,00	3,25	3,25	4,00	3,50	3,50	3,00	3,25	2,25	3,25	3,25	3,50	3,50	1,50	3,50	3,25	3,50	3,00	3,75	3,75	3,75	3,50	3,75	3,50	3,25	3,25	
36	2,75	1,50	3,00	2,00	2,00	2,50	3,00	3,25	3,50	2,25	2,25	2,25	1,00	2,50	2,50	1,75	2,75	2,25	2,75	2,50	3,00	2,00	2,50	3,00	3,50	2,75	2,50	2,75	2,00	2,75	
37	3,50	2,50	3,25	2,75	2,25	3,25	3,25	3,00	3,25	2,50	2,50	3,00	2,75	2,00	3,75	3,75	2,75	3,00	2,75	3,25	3,25	3,25	4,00	4,00	2,00	3,50	2,00	3,50	3,50	3,25	2,25
38	3,25	2,00	2,50	2,50	2,25	2,25	3,25	2,50	2,75	2,00	1,50	2,25	2,50	1,75	2,50	3,25	2,25	1,75	2,25	3,50	2,50	3,50	2,75	2,00	2,00	3,00	2,00	3,00	2,25	2,75	
39	2,75	2,00	3,25	2,50	2,00	3,75	2,50	2,75	4,50	2,25	1,75	1,25	2,75	2,00	2,00	2,00	2,75	2,75	3,25	3,25	4,25	4,25	2,50	2,50	3,50	3,25	3,50	2,50	3,00	3,00	
40	2,00	2,00	3,25	3,25	2,75	2,75	2,50	3,50	2,50	2,50	2,50	2,50	1,50	3,25	2,00	2,25	3,00	4,00	2,50	4,00	4,00	2,50	3,50	4,50	4,00	4,50	4,00	3,00	3,00	3,50	
41	2,50	2,00	2,75	1,75	2,50	3,25	2,75	2,75	2,25	1,50	2,50	2,50	1,75	2,50	3,50	2,75	1,00	2,75	3,50	3,00	3,75	3,25	3,25	2,75	2,50	2,75	2,50	2,75	2,50	2,75	2,75
43	2,00	2,25	2,25	2,00	2,50	3,25	3,00	2,00	2,75	2,25	3,25	3,00	1,25	2,00	2,25	2,75	2,25	1,50	2,25	2,00	2,00	1,75	1,50	2,25	2,25	1,75	2,25	1,75	2,25	1,75	2,00
44	2,50	2,00	3,00	1,50	1,25	3,25	2,25	3,50	2,00	2,50	1,50	1,00	1,25	2,75	2,00	2,50	2,75	3,00	2,25	2,75	2,25	3,00	3,50	3,50	3,50	4,00	2,00	3,50	3,00	3,75	3,25

Čím nižší hodnota, tím vhodnější chovný pár poskytující variabilnější potomstvo

Něvhodnější pár

Vhodný pár

Obr. 2: Ukázka hodnot diverzitního koeficientu pro párová křížení u 70 jedinců

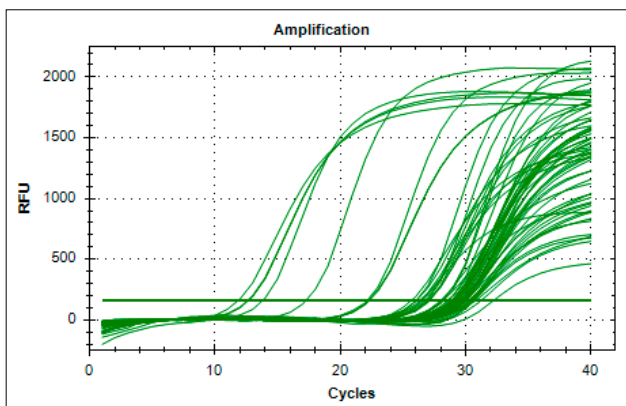
Analýza typu B: individuální charakteristika jedince – 70 vzorků/1 populace pro párové křížení a následné získání co nejvariabilnějšího potomstva (Zadavatel: FROV JU a Rybářství Srlín, s.r.o., 2022–2023)

Výsledek: v Rybářství Srlín, s.r.o. u 70 zkoumaných ryb byl potvrzen výskyt jen druhově čistých karasů obecných. Byl prokázán ve zkoumané populaci pestřejší vnitrodruhový homozygotně – heterozygotní design, tzn. výskyt obou linií – Severomořské (Labské) i Černomořské (Dyjské). Byla potvrzena vhodnost generačních ryb z těchto sádek pro potřeby prodeje násadových ryb karase obecného a bylo doporučeno zohledňovat rozpoznanou genetickou vnitrodruhovou diverzitu při budoucích manipulacích a zamýšlených přesunech rybí obsádky na jiné koncové lokality. Pro následnou umělou reprodukci byl vytipován dostatečný počet nejvhodnějších a vhodných chovných párů poskytujících co nejvariabilnější potomstvo (Obr. 2).

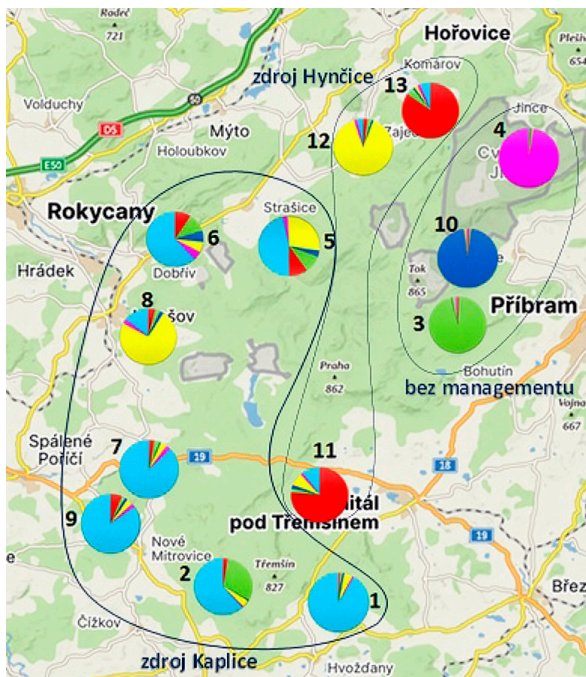
*Případová studie C* – Celosezónní monitoring nákaz v sádkách Pravíkov, s.r.o. Využití vlastního vývoje qPCR souprav RT-qPCR AEROMident, RT-qPCR FLAVident, RT-qPCR ICHTident, RT-qPCR LACTident, RT-qPCR TETRACAPSident.



*Případová studie D* – Genetická analýza populací pstruha obecného (*Salmo trutta*) v tocích na území CHKO Brdy (monitoring rybářského obhospodařování; zadavatel CHKO a organizace ČRS, 2023) Výsledek: za využití vlastního vývoje soupravy STR Multiplex TRUTident12 byly odhaleny tři unikátní populace a byly určeny zdroje rybářského managementu u zbylých 10 populací (Obr. 3).



**Obr. 3:** Graf zobrazující intenzitu nákaz

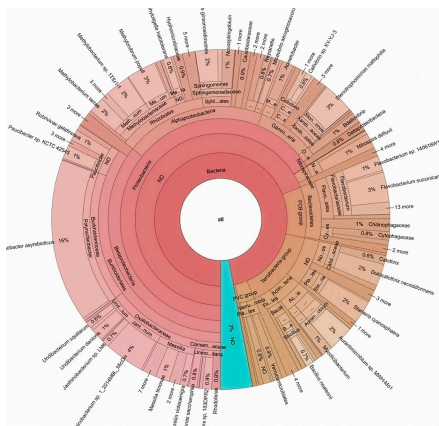


**Obr. 4:** Přehled variability 13 populací a zdrojů rybařského managementu na území CHKO Brdy

*Případová studie E* – spolupráce s fa SEQme na vývoji produktů s metagenomickou analýzou pro chovatele ryb (2025–2028).

Analýzy vodního mikrobiomu:

- pochopení sezónní dynamiky
- posouzení efektivity preventivně-léčebných postupů
- posouzení kvality vodního zdroje
- kontrola a monitoring patogenů a užitečných mikroorganismů
- zlepšení zdraví ryb a zvýšení produktivity chovu



**3) Biostatistické analýzy** vyhodnocení, porovnávání s vlastními a mezinárodními databázemi, posouzení unikátnosti a závěrečné reporty

#### 4) Provozování S7iFish portálu

Portál S7iFish je webová aplikace pro mapování rozmanitosti ryb a mikroorganismů v přírodě a akvakultuře. Využívá standardizované krátké genetické markery v nDNA (jaderné sekvence a mikrosatelity) a RNA (přístupy RT-qPCR) organismu k identifikaci konkrétních druhů a kmenů. Vzorky DNA a RNA jsou identifikovány podle taxonomie druhů/kmenů na základě porovnání s referenčními databázemi. Obsahuje modul pro objednávání produktů a služeb Centra aplikované zoologie.

Link: <https://s7ifish.ivb.cz/>



#### 5) Vývoj a prodej vlastních souprav



Centrum vyvíjí vlastní komerční soupravy a nabízí tři produktové řady: S7i, STR a qPCR. Možnost objednání produktů nebo servisu na platformě S7iFish.



#### 6) Experimentální zařízení pro vlastní testování

Experimentální stanice Mohelenský mlýn je k dispozici institucím a jednotlivým týmům pro testování rozličných technologií (např. CaviP technologie pro dezinfekci vody), krmným testům atd. Nabízí mnohé benefity: systém je postavený na přírodních podmínkách řeky Jihlavy, možnost průtočného či recirkulačního systému chovu ryb, klima mikroregionu poskytuje téměř celoroční provoz. Rozsáhlé laboratorní i bytovací zázemí.

### Závěr

Na několika případových studiích z praxe a nabídkách Centra aplikované zoologie byla demonstrována užitečnost rozličných molekulárně-genetických nástrojů pro chovatele a ochránářský management.

### Poděkování

Studie a některé produkty a služby vznikly za finanční podpory projektu NAZV QK21010030 – Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb.

## Literatura

- Halačka K., Mendel J. 2024. Využití technologie nanovláknenných filtrů k detekci patogenů v chovech ryb. Ověřená technologie 27/2024, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i., ISBN 978-80-87189-46-7.
- Halačka K., Mendel J. 2023. CZ 37354 U1 – Souprava pro odběr a filtraci vzorků vody. Užitený vzor.
- Mendel J., Marešová E. 2024. Genetická souprava STR Multiplex OMident11 ke stanovení populačních parametrů v komerčních chovech pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Funkční vzorek.
- Šindelka R., Mendel J. 2023. Diagnostická souprava RT-qPCR ICHTident na detekci a kvantifikaci *Ichthyophthirius multifiliis* ve vzorcích vody, tkání a kožních stěrů. Funkční vzorek.
- Šindelka R., Mendel J. 2022. Diagnostická souprava RT-qPCR TETRACAPSIDent na detekci a kvantifikaci *Tetracapsuloides bryosalmonae* ve vzorcích vody, tkání a kožních stěrů. Funkční vzorek.
- Šindelka R., Mendel J. 2022. Diagnostická souprava RT-qPCR FLAVident na detekci a kvantifikaci *Flavobacterium psychrophilum* ve vzorcích vody, tkání a kožních stěrů. Funkční vzorek.
- Šindelka R., Mendel J. 2022. Diagnostická souprava RT-qPCR AEROMident na detekci a kvantifikaci *Aeromonas* spp. ve vzorcích vody, tkání a kožních stěrů. Funkční vzorek.

Další informace na vyžádání u autorů a produktové listy na adrese:  
<https://s7ifish.ivb.cz/>

# Využití metagenomiky pro monitoring kvality vody a nálezů v recirkulačních systémech

Mendel J., Marešová E., Halačka K.

*Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Květná 8, 603 00 Brno*

E-mail: [jmendel@seznam.cz](mailto:jmendel@seznam.cz)

## Abstrakt

Představovaná studie naznačuje užitečnost a velký potenciál metagenomiky pro praktický chovatelský management a možné směry integrace jejich výstupů do provozní praxe. Byla provedena na dvou RAS systémech s chovem pstruhů duhových a odlišným managementem vody. Byly sledovány tři cílové oblasti: 1) kvalita a míra ohrožení plynoucí z vodního zdroje přitékajícího do chovatelského systému – pro nastavení spolehlivého managementu vody; 2) stanovení základního panelu bioindikátorů monitorující systém – Core BioPanel; 3) vliv prevence a léčebných zásahů managementu na celoroční mikrobiom obou systémů. Zde uvádíme jen výsledky k bodu 2 a uvádíme stručný přehled klíčových skupin mikroorganismů jako indikátorů s rozličnou funkcí. Přidáváme i stručnou diskusi nad vhodnými kroky provozního managementu. Mikrobiom obou systémů je komplexní živý ekosystém, v kterém jsme detekovali minimálně 10 společenstev, jež mezi sebou interagují, soutěží i spolupracují. A rozdělili jsme je do tří hlavních skupin: prospěšné, signální a škodlivé.

## Úvod

Metagenomika se stává nedílnou součástí moderní biologie a nachází uplatnění v medicíně, veterinární medicíně, biotechnologiích i zemědělství, zejména ve studiích zaměřených na strukturu a funkce mikrobiálních společenstev napříč ekosystémy. V akvakultuře byla doposud pozornost věnována především detekci a monitoringu genů antimikrobiální rezistence (AMR) – s převahou studií v mořském prostředí a na brakických farmách (Hemamalini et al., 2022; Munang'andu, 2016). Sladkovodní akvakultura však představuje mimořádně důležitý sektor úzce provázaný s cíli udržitelného rozvoje OSN (SDG 2, 3, 6 a 13) a její rozvoj vyžaduje metodiky,

keré zvýší odolnost produkce, bezpečnost potravin a zdraví chovaných organismů. Častější aplikace metagenomiky ve sladkovodní akvakultuře ve státech, jako jsou USA, Jižní Korea či Kanada, dokládá, že se poznání v této oblasti rychle rozvíjí a prohlubuje.

Ekonomické dopady infekčních onemocnění v akvakultuře jsou značné, a zvláště tíživé v tropických a rozvojových zemích, kde jsou možnosti mitigace omezené (Assefa & Abunna, 2018). Klasické diagnostické přístupy založené na izolaci původců z infikovaných hostitelů narážejí na známé limity: rozsáhlá druhová diverzita, kultivační náročnost či nekultivovatelnost řady taxonů a časová náročnost (Martínez-Porchas & Vargas-Albores, 2017; Streit & Schmitz, 2004; Wang et al., 2012). Moderní molekulárně-biologické metody, včetně metagenomiky, proto představují cestu k včasné detekci rizikových změn a prevenci ztrát (New & Brito, 2020; Nielsen et al., 2014; Miller et al., 2013; Coughlan et al., 2015). Vedle dohledu nad patogeny přinášejí i možnost objevovat prospěšné mikroorganismy využitelné pro bioremediaci či bioaugmentaci (Behera et al., 2023).

Ve sladkovodních recirkulačních akvakulturních systémech (RAS) má metagenomika potenciál překlenout propast mezi detekcí a řízením funkce mikrobiální komunity. Jak zmiňuje Renwick (2025), jednou z klíčových výhod je prediktivní diagnostika: sledování časových posunů v diverzitě a abundanci mikroorganismů může signalizovat blížící se poruchy provozu či nástup onemocnění (např. ústup nitrifikátorů nebo vzestup oportunních rodů *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio* atd). Metagenomické nástroje rovněž umožňují identifikovat prospěšná konsorcia pro cílenou probiotickou/bioaugmentační intervenci a hodnotit účinnost úpravy vody či biofiltračních procesů; změny ve struktuře komunit po sanitačních zásazích, UV sterilizaci či chemickém ošetření mohou sloužit k optimalizaci postupů. Longitudinální datové sady pak objasňují sukcesi a zrání mikrobiomu systému, což pomáhá načasovat zarybnění a provozní zásahy. Přes tento potenciál brzdí rutinní nasazení metagenomiky v komerčních RAS dosavadní náklady, složitost workflow a požadavky na bioinformatické kapacity (Renwick, 2025).

Tato studie chce naznačit užitečnost metagenomiky pro praktický chovatelský management a možnou integraci jejich výstupů do provozní praxe.

## Materiál a metodika

### *Výběr monitorovacích profilů v čase a četnost vzorkování*

K monitoringu byly vybrány všechny potenciální zdroje vody rybochovného zařízení v Pravíkově - 5× povrchové, 5× hlubinné a 3 profily v každém ze dvou systémů – RAS 1 a RAS 2 (vstup vody do systému, biofiltr, výstup vody z odchovných nádrží k biofiltru). Vzorky byly odebírány celý rok 2024 jednou (listopad–únor), resp. dvakrát (březen–říjen) měsíčně.

### *Způsob odběru vody a filtrace pomocí nanofiltrů*

Všechny komponenty procesu a nástroje byly sterilizovány UV zářením. Odběr vody probíhal do plastové nádoby o objemu 500 ml umístěné na držáku. Filtrace vody byla prováděna pomocí stříkačky a opakovaně použitelné kapsle (užitný vzor), ve které byl umístěn kruhový výsek membránového nanofiltru různé poréznosti o průměru 45 mm (Obr. 1, 2).

Vzorky nanofiltrů byly při transportu uchovávány na suchém ledu a následně skladovány v laboratoři při -20 °C.

DNA izolace byla provedena za použití kitu DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN) dle upraveného protokolu. Měření koncentrace vyizolované gDNA bylo prováděno pomocí Qubit BR a HS DNA kitem. Sekvence 16S



**Obr. 1:** Odběry vody pro nanofiltrace



**Obr. 2:** Vlastní soupravy na filtraci vody včetně kapsle s kruhovým nanofiltrem. Ukázka filtračního koláče po filtraci.

podjednotky s primery 27F a 1492R byla zvolena pro identifikaci a relativní kvantifikaci bakterií. Následně byly všechny amplikony sekvenovány dlouhým čtením na přístroji PromethION SOLO2 (Oxford Nanopore Technologies Ligation Sequencing Kit V14 (SQK-LSK114) a PromethION Flow Cell R10.4.1 (FLO-PRO114M). Raw data byly bioinformaticky zpracovány pomocí softwarového rozhraní MinKnow 24.06.16 (ONT). Demultiplexování bylo provedeno na základě sekvencí čárových kódů. Demultiplexované čtení bylo filtrováno na základě délky čtení (1000–2000 nt) a oříznutí 80 nukleotidů nízké kvality z obou konců čtení pomocí programu NanoFilt verze 2.8.0. Analýza relativní abundance byla provedena pomocí softwaru EMU verze 3.5.0 s použitím databáze SILVA 138.1 s možnostmi uchovat počty čtení a uchovat soubory a s použitím tří filtrů: a) analýza relativní abundance byla provedena pouze pro soubory FASTQ s více než 5000 čteními, b) přiřazení čtení k organismu bylo provedeno s alespoň 50% jistotou, c) identifikované organismy musely mít alespoň 100 čtení. Vizualizace výsledků relativní abundance byla provedena pomocí softwaru Krona (v2.8.1). Vstupní soubory Krona byly generovány v bash s použitím souborů relativní abundance EMU.

## Výsledky a diskuse

Vodní prostředí metagenomicky monitorovaných RAS 1 a RAS 2 tvořily v roce 2024 různé zdroje přitékající vody – hlubinné či povrchové: systém RAS 1 – Studánka, Meliorace, lesní rybník Očko a systém RAS 2 – rybník Nový, Vrt 2 a Vrt 3. Přítoky ani samotný systém nebyly ošetřovány žádnou technologií jako např. UV lampy, ozonizér atd. V obou systémech probíhaly preventivně-léčebné procesy dle sezónní dynamiky a zvyklostí provozu. Rovněž v obou systémech během roku proběhl jeden proces vypuštění a vyčištění chovných žlabů.

Při komplexní metagenomické studii jsme sledovali více cílů, z nichž tři cílové oblasti byly zcela zásadní:

- 1) Kvalita a míra ohrožení plynoucí z vodního zdroje přitékajícího do chovatelského systému
- 2) Stanovení základního panelu bioindikátorů monitorující systém (Core BioPanel)
- 3) Vliv prevence a léčebných zásahů managementu na celoroční mikrobiom systémů

Zde uvádíme jen výsledky k bodu 2 a uvádíme stručný přehled klíčových skupin mikroorganismů jako indikátorů s rozličnou funkcí. A přidáváme i stručnou diskusi nad vhodnými kroky provozního managementu.

V obou RAS systémech jsme detekovali 10 společenstev, které jsme rozdělili do tří hlavních skupin: prospěšné, signální a škodlivé.

### Skupina: *Prospěšné mikroorganismy*

#### a) Biofiltrové společenstvo

Funkce: Oxidace amoniaku na dusitany ( $\text{NO}_2^-$ ) a následně na dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ), klíčové pro nitrifikaci.

Stav: identifikovány nitrifikační bakterie (AOB, NOB) – rody: *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrobacter*.

Funkce: Odstraňování dusičnanů zpět na dusík, pomáhají při snižování koncentrace dusičnanů.

Stav: identifikovány denitrifikační bakterie – rody: *Comamonas*, *Dechloromonas*, *Paracoccus*, *Thauera*, *Denitratisoma*, *Bradyrhizobium*, *Paucibacter* atd.

Stav souhrnně: biofiltry obou RAS nebyly dlouhodobě (>5 let) naočkovány komerční kulturou, jsou udržovány přenosem 5-10 % objemu nosičů zralého média z funkčního biofiltru. Rovněž byl pozorován početný příspěvek z přítokové vody především povrchového typu.

Indikátor: prokázaná přítomnost ve vyšších koncentracích signalizují efektivní biologickou filtraci.

#### b) Probiotické společenstvo

Funkce: zlepšení imunitního systému ryb, potlačování patogenů

Stav: pozorovány rody *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Pediococcus*, *Paenibacillus*.

#### c) Biofilmové společenstvo

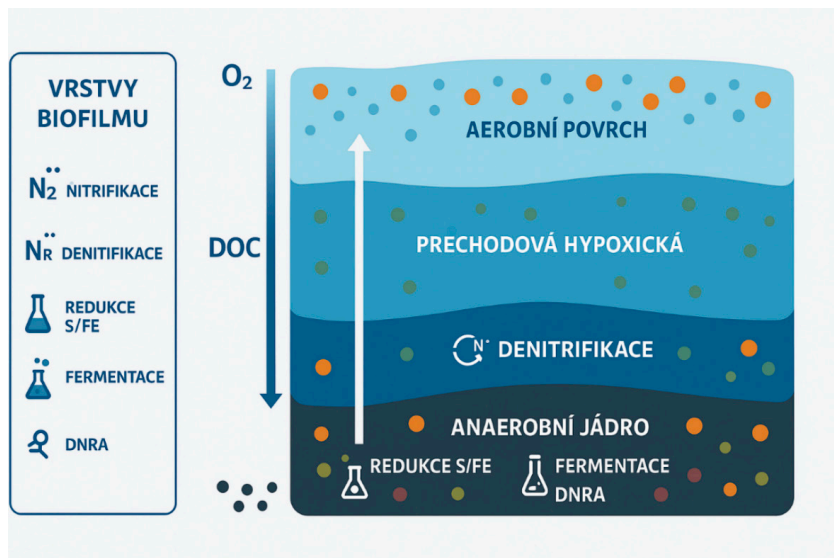
Jde o klíčový více vrstevnatý ekosystém rozličných společenstev mikroorganismů, kteří mezi sebou interagují, soutěží i spolupracují:

- Vnější vrstva – aerobní rozhraní

Funkce: nitrifikace + odbourávání snadno dostupného uhlíku

Stav: pozorovány bohatá společenstva nitrifikátorů (AOB, NOB), aerobních heterotrofů a producentů EPS (exopolysacharidů) zodpovídající za soudržnost biofilmu. Konkrétně se jednalo o rody: *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Comamonas*, *Chryseobacterium*, *Chryseolinea*, *Chthoniobacter*, *Defluviimonas alba*, *Sphingomonas* atd.

V celoročním pohledu zjištěné trendy odkazovaly jak na zralost, odolnost a stabilitu biofilmu s dobře vyvinutým redoxním potenciálem, tak i na eutrofizaci, organické přetížení a ekologický stres či oslabení nitrifikace.



Obr. 3: Struktura vrstev biofilmu

**Indikátor žádoucí:** stabilní přítomnost nitrifikátorů, tenký/soudržný biofilm, nízký TAN a  $NO_2^-$  ve vodě, plynulé ubývání alkalinity (spotřeba zásady = probíhající nitrifikace, přítomní prvoci (nálevníci) jako „čističi“).

**Indikátor rizikový:** Vysoký DOC/TSS → povrch přerůstá heterotrofní sliz, roste EPS a biofilm tloustne, růst oportunistů (např. *Aeromonas*, *Flavobacterium*), pokles podílu nitrifikátorů, kolísání DO u nosiče (lokálně pod ~5–6 mg/l, u lososovitých vyšší potřeba) a rychlá spotřeba alkalinity bez odpovídajícího poklesu TAN (neefektivní nitrifikace), časté odlupování vloček při smyku/aeraci → zhoršení filtrace a přenos organiky dál do systému.

Sledovat: DO u biofiltru, TAN/ $NO_2^-$ / $NO_3^-$ , alkalita/pH (denní trend), DOC/TSS, mikroskopii biofilmu, podíl nitrifikátorů (16S/shotgun nebo qPCR *amoA/nxrB*).

Reakce: Zvýšit proudění a provést proplach (ale ne destruktivně). Snížit DOC: krmná disciplína, účinnější mechanická filtrace/odtahy kalu. Stabilizovat pH/alkalitu (menší, častější dávky zásady).

- Přechodová hypoxická vrstva

Funkce: koexistence aerobních a fakultativně anaerobních procesů; část nitrifikace a počátek denitrifikace.

Stav: pozorovány bohatá společenstva bakterií: *Paracoccus*, *Thauera*, *Dechloromonas*, *Denitratisoma*, aj.

**Indikátor žádoucí:** Vyvážená koexistence: aerobové + fakultativní denitrifikátoři (*Paracoccus*, *Thauera*, *Dechloromonas*) bez přerůstání. Nízký, stabilní  $\text{NO}_2^-$  (bez špiček po zátěžích), ORP v mírně oxidujícím pásmu. Po proplachu se rychle obnoví nitrifikace (krátká doba návratu k nízkému TAN/ $\text{NO}_2^-$ ).

**Indikátor rizikový:** Kolísání  $\text{NO}_2^-$ , epizody  $\text{N}_2\text{O}$ , zvýšený poměr denitrifikátorů k nitrifikátorům v datech. Přesycení organikou → denitrifikace „předbíhá“, může docházet k DNRA ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+$ ) – TAN se drží vysoko. Po sanitaci/UV zpožděná obnova nitrifikace (povrchová zóna oslabená). Sleduj:  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  (profil během dne),  $\text{N}_2\text{O}$  (pokud je senzor), ORP, 16S/shotgun (denitrifikátory vs. nitrifikátory), poměr DOC: $\text{NO}_3^-$ .

Reakce: Vyrovnat zatížení amoniakem, nepřekrmoval. Snižit DOC (mechanická filtrace, odtahy kalu). Jemně navýšit aeraci/míchání, aby se posunula hranice DO blíže k povrchu. Omezit tvrdé dezinfekční zásahy v hlavní smyčce; plánovat je off-line.

- Vnitřní vrstva – anoxická/anaerobní jádrová zóna

Funkce: denitrifikace, DNRA ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+$ ), fermentace a redukce S/Fe, rozklad odumřelých buněk, organických zbytků a biofilmů, zlepšuje se kvalita vody.

Stav: pozorována společenstva fermentorů (často *Bacteroidota* a *Firmicutes* – např. *Bacteroides*, *Clostridium*), Sulfát-redukující (*Desulfovibrio*, *Halochromatium*, *Chloroherpeton*) a železo-redukující (*Geobacter*, *Anaeromyxobacter*). A dále rody: *Shewanella*, *Planctomyces* atd.

**Indikátor žádoucí:** Malé, stabilní jádro bez zápachu po sirovodíku; funkční je „pojistná“ denitrifikace, nikoli dominantní fermentace. Nízké až neměřitelné  $\text{H}_2\text{S}$  v okolní vodě;  $\text{NO}_3^-$  klesá bez nárůstů TAN (tj. nepřevládá DNRA).

**Indikátor rizikový:** Zvětšování anaerobního jádra (tlustý biofilm), zápach  $\text{H}_2\text{S}$ , černání usazenin. Růst sulfát-/sířičitan-reduktorů (*Desulfovibrio*) a Fe-reduktorů (*Geobacter*, *Anaeromyxobacter*); při současném  $\text{NO}_2^-$  možná chemodenitrifikace →  $\text{N}_2\text{O}$ . DNRA ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+$ ): TAN neklesá, ačkoli je dostatek  $\text{NO}_3^-$ . Vločkovitý kal se uvolňuje do okruhu → sekundární zákal a kyslíkový stres.

Sledovat:  $\text{H}_2\text{S}$  (místně i ve vodním sloupci), ORP (rizikové jsou hluboce záporné hodnoty v sedimentech), železo ( $\text{Fe}^{2+}$ ),  $\text{N}_2\text{O}$ , mikroskopie kalu,

16S/shotgun (SRB/Fe-reduktory, fermentoři) a poměr DNRA vs. denitrifikace (markerové geny).

Reakce: Ztenčit biofilm: zvýšit smyk, proplach/backwash, mechanicky odstranit „kapsy“. Odstranit jemný kal a „dead zones“ v potrubí/nádržích. Omezit přísun síry/Fe (materiály, koroze), stabilizovat pH/DO. Pokud se objeví H<sub>2</sub>S či zvýšený nárůst S-redukujících bakterií okamžitě aerovat a zdroj kalu fyzicky odstranit (ne „léčit chemií“ v hlavním okruhu).

#### d) Společenstvo obligátních predátorů (BALOs)

Stav a funkce: byli identifikováni obligátní predátoři, kteří jsou užitečným ekologickým nástrojem pro potlačení hlavně gram-negativních oportunistů ve vodních systémech (rody *Aeromonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, některé *Pseudomonas*, ale pozor potenciálně i nitrifikátora *Nitrosomonas*). Nejsou používáni jako trvalá přísada do biofiltru a nenahradí preventivně-léčebný management. Klesne-li hustota kořisti, klesne i populace BALOs. Jsou citlivé na UV, ozon, vysoké ORP a chemikálie stejně jak cílové bakterie. Rozpoznali jsme: *Bdellovibrio* spp., *Chondromyces crocatus*, *Kordiimonas lipolytica*, *Lactococcus lactis*, *Micavibrio aeruginosavorus*, *Myxococcus hansupus*, *Nannocystis pusilla*, *Paenibacillus polymyxa*, *Peredibacter starrii*, *Polyangium brachysporum* a *P. fumosum*, *Pseudoduganella danionis*, *Pseudomonas RU47*, *Sandaracinus amylolyticus* atd.

Nejsou zatím komerčně využíváni, ale některé jsou již zkoumáni jako alternativa k antibiotikům/probiotikům v akvakultuře. Některé chrání nitrifikátory a denitrifikátory před mechanickým či oxidačním poškozením (O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), jiné produkují antimikrobiální metabolity (např. indolové deriváty) a jiné jsou i antifungálními druhy.

### Skupina: Signální mikroorganismy

#### e) Společenstvo extremotolerantních bakterií

V akvakulturních systémech se objevují bakterie, které dokážou přežít v extrémních podmínkách: kolísání pH, teploty, salinity, redoxních potenciálů, vyšší množství amoniaku i oxidačního stresu (UV, ozonizace). Tyto organismy jsou spíše extremotolerantní a nemusí být nutně extremofilní, protože nejde o trvalý extrém, ale adaptaci na výkyvy.

Stav a funkce: identifikovali jsme rody *Deinococcus*, *Sphingomonas* a *Bacillus* = „dobří odolní pomocníci“, indikují stabilitu a regeneraci biofilmu po stresu. Dále *Acinetobacter* spp. a *Pseudomonas aeruginosa* = rizikové oportuniste, jejich přemnožení signalizuje ekologický stres, přetížení nebo špatné hygienické podmínky. *Acinetobacter* spp. jsou odolné vůči dezinfekci, antibiotikům a těžkým kovům. Části kolonizátoři biofilmu po čištění. Mohou být oportunní patogeny a indikují organickou zátěž. A pak spóry *Bacillus*

*subtilis* přežívají teplo, vyschnutí a dezinfekci. Typické – rychlá obnova mikrobiální komunity po zásahu. Dobrý indikátor odolnosti a schopnosti systému se regenerovat.

f) Společenstvo zajišťující monitoring těžkých kovů ve zdrojích vody a v systému

Pro ryby jsou některé kovy rizikem jako např. Cu, Zn, Al, Pb, Cd, Ni, Cr, Hg, As – poškozují žábry (osmoregulace, dýchání), imunitu a chování. Pro biofiltr jsou rizikem Cu, Zn, Ni, Cr(VI) utlumují nitrifikátory už v nízkých množstvích. Kovy se objevují díky přítomným materiálům a procesu koroze, chemii i léčivům, krmivu, přítokové vodě atd.

Stav: byly pozorovány v hlubinných i povrchových zdrojích vod rozličné bakterie, které poukazují na dlouhodobou i občasnou přítomnost těžkých kovů ve vodním prostředí. Jednalo se např. o bakterie: *Herminiimonas arsenicoxydans* a *Herminiimonas arsenitoxidans* (As); *Fervidicella metallireducens*, *Leptothrix cholodnii*, *L.discophora*, *L. mobilis* (Fe, Mn, V, Co); *Cupriavidus metallidurans*, *C. necator* (Cu, Zn, Cd, Ni, Hg, Pb) a další: *Ralstonia*, *Arthrobacter*, *Ferriphaselus*, *Gallionella*, *Magnetospirillum*, *Pedomicrobium*, *Sideroxydans*.

### Skupina: Škodlivé/rizikové mikroorganismy

g) Společenstvo ohrožujících cyanobakterií

Stav a funkce: byly prokázány v některých povrchových zdrojích vod druhy sinic, které jsou ohrožením pro rybí obsádku z rozličných důvodů: produkci toxinů (hepatotoxiny, neurotoxiny, dermatotoxiny a iritanty, subletální stres a podráždění žaber, imunitní a osmoregulační stres a horší růst, O<sub>2</sub> a pH výkyvy, rozpad cyanobakteriálního květu = spotřeba kyslíku a uvolnění DOC → výbuch heterotrofů, tlustší biofilm, oslabení nitrifikace, riziko H<sub>2</sub>S v kapsách, Off-flavour: geosmin/MIB → „blátivá“ pachut' v mase, mění poměr nitrifikátoři : heterotrofům, přibývá denitrifikace/DNRA v jádru biofilmu (změna biofilmové ekologie).

Sledovat: DO (den/noc), pH profil, TAN/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, DOC/TSS, ORP, zákal, zápach/chuť (geosmin/MIB), mikroskopie nátěrů ze stěn a sítěk, molekulárně: 16S/shotgun + markery mcy, cyr, ana, sxt (genové klastry pro toxiny).

Identifikovali jsme v některých povrchových přítocích např. *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena* sp. 90, *Anabaena* sp. WA102, *Dolichospermum* spp., *Planktothrix agardhii*, *Nodularia spumigena*, *Anabaena cylindrica*, *Gloeocapsa* sp. PCC 7428 v rozličném množství, ale v teplejších měsících i velmi alarmujících koncentracích.

Reakce: Okamžitě zvýšit aeraci/oxygenaci, držet P nízko (účinné odtahy kalu, nepřekrmovat), vyrovnané C:N, přerušit krmení a omezování DOC lepší filtrací atd.

#### h) Společenstvo producentů „off-flavour“

Stav a funkce: byly detekovány mikroorganismy produkující zejména geosmin a 2-methylisoborneol (2-MIB), kteří jsou v chovech ryb nevhodné, protože i stopové množství těchto látek může způsobovat nežádoucí „bahňitou“ nebo „zemitou“ chuť masa, a tak snižovat prodejní kvalitu i tržní cenu.

Byly identifikovány tyto rody: *Streptomyces*, *Nocardia*, *Nocardiodes*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Phormidium*, *Lyngbya*, *Dolichospermum*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus*.

Sledovat: 16S/shotgun nebo markery *geoA/mibC* jako včasný varovný signál.

Reakce: třeba omezit mrtvou zónu a kaly, zlepšit světelný režim (bránit vzniku vodních květů), posílit filtrační a strippingové kroky.

#### i) Společenstvo patogenů ryb

Stav: v roce 2024 byly zaznamenány různé hladiny a trendy bakterií ohrožující rybí obsádku: *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Lactococcus garvieae*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Flavobacterium branchiophilum*, *Flavobacterium columnare* a byly propojovány s manifestačními příznaky navenek a s léčebnými zásahy.

#### j) Společenstvo oportunních lidských patogenů

Funkce: Nejsou primárně patogenní, ale mohou vyvolat infekci u člověka při oslabené imunitě, poranění kůže nebo kontaktu s biofilmem či při aerosolizaci vody. Stav: byly zaznamenány bakterie ohrožující lidskou obsluhu: *Lactococcus garvieae*, *Granulibacter bethesdensis* a rodu *Legionella* – *L. pneumophila*, *L. longbeachae*, *L. oakridgensis*, *L. sainthelensi*, *L. waltersii*, *L. clemsonensis*: Přítomnost druhů jako *L. pneumophila*, *L. longbeachae* nebo *L. oakridgensis* vyžaduje okamžitou hygienickou kontrolu systému. Určitě je na místě uplatňovat biosafety úroveň 2 a přísné hygienické zacházení s biofilmem, aerosoly a vodou.

## Závěr

Metagenomický monitoring ročního cyklu v chovatelském zařízení je velmi přínosný – přináší detailní vhled do vodního mikrobiomu, umožňuje cílené zásahy podle ročních fází a pomáhá racionálně nastavit management vodních zdrojů. Umožňuje i včasnou prevenci mikrobiálních nerovnováh a onemocnění a podporuje optimalizaci provozu, dezinfekce i filtrace. V neposlední řadě přináší ekonomické výhody díky lepšímu zdraví ryb a vyšší produkci.

Očekává se, že neustálý technologický pokrok a snižující se náklady zpřístupní metagenomické přístupy v širokém měřítku. Probíhá také vývoj

uživatelsky přívětivějších platform a cílených sekvenčních sad určených speciálně pro akvakulturní mikrobiomy, které slibují překlenutí propasti mezi výzkumem a aplikací. V kontextu udržitelné akvakultury představuje aplikace metagenomiky mocný nástroj pro ekologické porozumění a mikrobiální management. Poskytováním podrobného pohledu na mikrobiální ekosystémy v reálném čase podporuje metagenomika optimalizaci funkcí systému, kontrolu nemocí a ochranu životního prostředí. Vzhledem k tomu, že precizní akvakultura nadále nabývá na dynamice, bude mikrobiální genomika nepochybně hrát ústřední roli v návrhu a provozu recirkulačních systémů nové generace, což přispěje k potravinové bezpečnosti a růstu průmyslu (Renwick 2025).

### Poděkování

Studie vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK21010030 – Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb.

### Literatura

- Halačka K., Mendel J. 2023. CZ 37354 U1 – Souprava pro odběr a filtraci vzorků vody. Užitiný vzor.
- Halačka K., Mendel J. 2024. Využití technologie nanovláknenných filtrů k detekci patogenů v chovech ryb. Ověřená technologie 27/2024, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i., ISBN 978-80-87189-46-7.
- Macedo DB, dos Anjos TMC, De Los Santos EFF, Rodrigues MDN, Alegria OVC and Ramos RTJ. 2024. New perspectives on metagenomic analysis for pathogen monitoring in sustainable freshwater aquaculture production: a systematic review. *Front. Freshw. Sci.* 2:1459233. doi: 10.3389/ffwsc.2024.1459233.
- Renwick J. 2025. Metagenomics of Aquatic Microbiota in Recirculating Systems. *J Aquac Res Dev.* 16:964.

Další literatura na vyžádání u autorů.

## Eliminace bakteriálních patogenů ryb z vodního prostředí pomocí technologie CaviPlasma

Palíková M.<sup>1,2</sup>, Vaibarová V.<sup>3</sup>, Stáhel P.<sup>4</sup>, Čech J.<sup>4</sup>,  
Toulová I.<sup>1,2</sup>, Mikulíková I.<sup>1,2</sup>, Novotná H.<sup>1,2</sup>, Pikula J.<sup>1,2</sup>,  
Mendel J.<sup>5</sup>, Rudolf P.<sup>6</sup>, Maršálek B.<sup>7</sup>, Papežíková I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ústav ekologie a chorob zoonózních, zvěře, ryb a včel, Fakulta veterinární  
hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno,  
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>2</sup>Ústav zoologie, rybářství a hydrobiologie, Agronomická fakulta,  
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

<sup>3</sup>Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinární medicíny,  
Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>4</sup>Ústav fyziky a technologií plazmatu, Masarykova univerzita,  
Kotlářská 2, 611 37 Brno

<sup>5</sup>Ústav biologie obratlovců, Akademie věd ČR,  
Květná 170/8, 603 00 Brno

<sup>6</sup>Odbor fluidního inženýrství V. Kaplana, Fakulta strojního inženýrství,  
Vysoké učení technické v Brně, Technická 2896/2, 616 69 Brno

<sup>7</sup>Botanický ústav Akademie věd České republiky,  
Lidická 25/27, 602 00 Brno

E-mail: papezikovai@vfu.cz

### Abstrakt

Tato práce byla zaměřena na testování biocidního účinku technologie CaviPlasma založené na kombinaci hydrodynamické kavitace a nízkoteplotního plazmatu. Byl testován biocidní účinek vůči třem bakteriálním patogenům ryb – *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* a *Flavobacterium psychrophilum*. Výsledky prokázaly vysokou biocidní účinnost úpravy vody pomocí technologie CaviPlasma. K úplné eliminaci *F. psychrophilum* došlo okamžitě, dokonce i při nejkratším ošetření. Aeromonády vykazovaly vyšší odolnost; k okamžité úplné eliminaci bylo potřeba delšího ošetření než u *F. psychrophilum*. Během skladování ošetřených bakteriálních suspenzí však koncentrace živých aeromonád klesly až na nulu, a to i při nejkratší

době ošetření. Výsledky ukazují, že technologie CaviPlasma je perspektivní metodou sanace vody s potenciálem pro využití k ošetření přítokové vody v recirkulačních akvakulturních systémech.

## Úvod

K nejčastějším příčinám ztrát v chovech ryb patří choroby způsobené bakteriálními patogeny. K léčbě bakteriálních infekcí se obvykle využívají antibiotika a chemoterapeutika, současné trendy však směřují k omezení používání těchto látek a kladou velký důraz na prevenci a na environmentálně udržitelné postupy. Jedním z důležitých preventivních opatření je eliminace patogenů z přítokové vody. K tomuto účelu se v rybářské praxi nejčastěji využívá ošetření vody ozonizací nebo ultrafialovým (UV) zářením. Obě tyto metody však mají své limity. Ozon je nestabilní molekula vysoce toxická pro ryby i pro další organismy a jeho použití vyžaduje přesné dávkování a pečlivou kontrolu. Při předávkování může dojít k poškození ryb nebo k poškození mikrobiální komunity biofiltru. Největší nevýhodou UV ošetření je jeho snížená účinnost ve vodě s horší průhledností – částice přítomné ve vodě mohou "odstínit" patogeny od UV záření (Hoogenboom a kol, 2018).

V této studii bylo testováno ošetření vody metodou CaviPlasma, která je založena na synergickém efektu hydrodynamické kavitace a nízkoteplotního plazmatu. Během ošetření vznikají ve vodě kromě UV záření i reaktivní formy kyslíku s biocidním účinkem (Čech a kol., 2025). Biocidní účinek byl již dříve prokázán u vody kontaminované cyanobakteriemi (Maršálek a kol., 2020) a bylo také zjištěno, že ošetřená voda dokáže v *in vitro* podmínkách inhibovat růst cyanobakterií a zelených řas (Čech a kol., 2020). V této práci byly pro testování zvoleny tři běžné bakteriální patogeny ryb – *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* a *Flavobacterium psychrophilum*.

## Materiál a metody

Byly připraveny tři modelové suspenze bakterií. Bakterie byly pomnoženy v tekutých médiích (TYES bujón pro *F. psychrophilum* a BHI bujón pro *A. salmonicida* a *A. hydrophila*) a následně naředěny odstátou vodovodní vodou na koncentraci 10<sup>6</sup> CFU/L. Poté byly bakteriální suspenze ošetřeny CaviPlasmou; bylo použito pět různých délek ošetření (21; 42; 63; 84 a 105 s). Neošetřené suspenze sloužily jako kontrola. Ošetřené/neošetřené suspenze byly inkubovány při teplotě 17 °C a inokulovány na agar (u *Aeromonas* spp. 0, 1, 2 a 7 dní po ošetření, u *Flavobacterium psychrophilum* 0, 1, 2, 3, 6, 8 a 15 dní po ošetření). Po nárůstu kolonií byly kolonie spočítány a byl zjištěn

počet CFU na 1 ml vzorku. Dále byly v ošetřených suspenzích měřeny koncentrace vzniklých vodorozpustných peroxidů pomocí komerčního kitu (Pierce™ Quantitative Peroxide Assay Kit; Thermofisher Scientific, USA).

## Výsledky a diskuze

Výsledky prokázaly vysokou biocidní účinnost úpravy vody pomocí technologie CaviPlasma. K úplné eliminaci *F. psychrophilum* došlo okamžitě, dokonce i při nejkratším ošetření (21 s) (Tabulka 1). Aeromonády vykazovaly mírně vyšší odolnost; okamžitá eliminace bylo dosaženo až při 63 s ošetření (u *A. hydrophila*) a 84 s ošetření (u *A. salmonicida*). Přestože kratší ošetření nedokázalo okamžitě eliminovat všechny aeromonády, během následné inkubace se ve všech suspenzích koncentrace živých bakterií postupně snížila na nulu (Tabulka 2, 3). Tento opožděný efekt byl pravděpodobně způsoben dlouhodobou perzistencí peroxidů v ošetřených suspenzích (Graf 1) (Odehnalová a kol., 2024). Podobný nepřímý efekt CaviPlasmy byl prokázán i ve studii Čech a kol. (2020) – ošetřená voda přidaná do kultivačního média inhibovala růst cyanobakterií a zelených řas.

## Závěr

Tato práce ukázala, že technologie CaviPlasma je perspektivní metodou sanace vody s potenciálem pro využití k ošetření přítokové vody v recirkulačních akvakulturních systémech (RAS). Zařízení je schopno ošetřit až

**Tab. 1:** Viabilita *F. psychrophilum* po ošetření bakteriálních suspenzí CaviPlasmou. Ošetřené/neošetřené suspenze byly inkubovány při 17 °C a očkovány na TYES agar 0, 1, 2, 3, 6, 8 a 15 dní po ošetření. Data představují počty CFU bakterií po 72 hodinách kultivace.

Délka ošetření	Dny po ošetření						
	0	1	2	3	6	8	15
kontrola	$1,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$8,6 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$	$1 \times 10^7$	$1,6 \times 10^3$
21 s	0	0	0	0	0	0	0
42 s	0	0	0	0	0	0	0
63 s	0	0	0	0	0	0	0
84 s	0	0	0	0	0	0	0
105 s	0	0	0	0	0	0	0

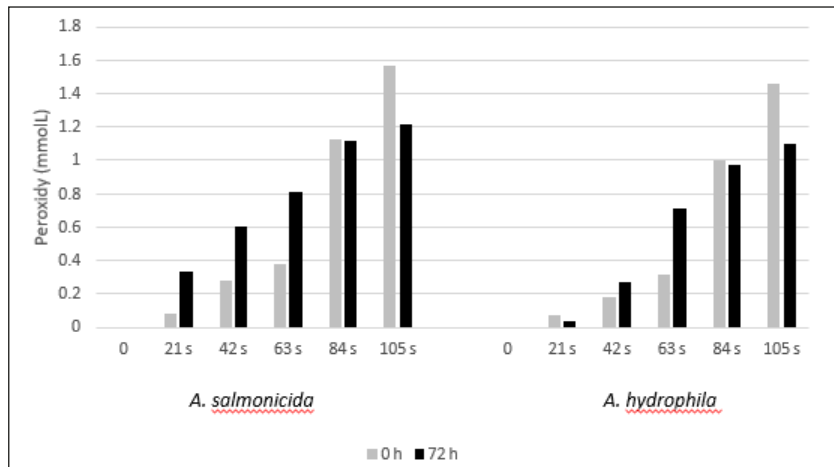
desítky m<sup>3</sup> vody za hodinu, což umožňuje jeho využití v reálných provozních podmínkách. Tato technologie poskytuje možnost významně omezit environmentální zátěž a dlouhodobé vedlejší účinky používání chemických léčiv.

**Tab. 2:** Viabilita *Aeromonas salmonicida* po ošetření bakteriálních suspenzí CaviPlasmou. Ošetřené/neošetřené suspenze byly inkubovány při 17 °C a očkovány na Columbia blood agar 0, 1, 2 a 7 dní po ošetření. Data představují počty CFU bakterií po 24 hodinách kultivace.

Délka ošetření	Dny po ošetření			
	0	1	2	7
kontrola	4,5 x 10 <sup>6</sup>	8,6 x 10 <sup>7</sup>	1,8 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>
23 s	1,0 x 10 <sup>6</sup>	2,9 x 10 <sup>3</sup>	0	0
42 s	1,2 x 10 <sup>5</sup>	2,9 x 10 <sup>3</sup>	0	0
63 s	9 x 10 <sup>1</sup>	0	0	0
84 s	0	0	0	0
105 s	0	0	0	0

**Tab. 3:** Viabilita *Aeromonas hydrophila* po ošetření bakteriálních suspenzí CaviPlasmou. Ošetřené/neošetřené suspenze byly inkubovány při 17 °C a očkovány na Columbia blood agar 0, 1, 2 a 7 dní po ošetření. Data představují počty CFU bakterií po 24 hodinách kultivace.

Délka ošetření	Dny po ošetření			
	0	1	2	7
kontrola	7,3 x 10 <sup>6</sup>	7,5 x 10 <sup>7</sup>	6,6 x 10 <sup>7</sup>	1,0 x 10 <sup>8</sup>
23 s	7,8 x 10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>2</sup>	0
42 s	2,7 x 10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>2</sup>	< 10 <sup>1</sup>	0
63 s	0	0	0	0
84 s	0	0	0	0
105 s	0	0	0	0



**Obr. 1:** Koncentrace vodorozpustných peroxidů v suspenzích *A. salmonicida* a *A. hydrophila*, různá délka ošetření (23; 42; 63; 84 a 105 s). Šedé sloupce: koncentrace peroxidů 2 h po ošetření, černé sloupce: koncentrace peroxidů 7 dní po ošetření.

## Poděkování

Tato práce byla financována z projektu Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb, QK 21010030.

## Literatura

- Čech J, Stáhel P, Ráheř J, Prokeš L, Rudolf P, Maršálková E, et al. Mass Production Of Plasma Activated Water: Case Studies Of Its Biocidal Effect On Algae And Cyanobacteria. *Water*. 2020; doi:10.3390/w12113167.
- Čech J, Stáhel P, Prokeš L, Trunec D, Horňák R, Rudolf P, et al. Glow discharge in water cavitation cloud with improved efficiency for hydrogen peroxide production. *Plasma Sources Sci T*. 2025; doi:10.1088/1361-6595/addf79.
- Hoogenboom LA, Sczesny S, Timmermans KR, van der Waal M, van der Keur H, de Roda Husman AM. Turbidity composition and the relationship with microbial attachment and UV inactivation efficacy. *Water Research*. 2018; 144:184–193. doi: 10.1016/j.watres.2018. 07. 055.

- Maršálek B, Maršálková E, Odehnalová K, Pochylý F, Rudolf P, Stáhel P, et al. Removal of *Microcystis aeruginosa* through the combined effect of plasma discharge and hydrodynamic cavitation. *Water*. 2020; doi:10.3390/w12010008.
- Odehnalová K, Čech J, Maršálková E, Stáhel P, Mayer B, Santana VT, et al. Exploring the dynamics of reactive oxygen species from CaviPlasma and their disinfection and degradation potential – the case of cyanobacteria and cyanotoxins. *Environ Sci Pollut Res*. 2025; doi:10.1007/s11356-024-35803-4.

## Technologie CaviPlasma jako nástroj pro eliminaci kožovce rybího (*Ichthyophthirius multifiliis*) v akvakulturních systémech

Toulová I.<sup>1,2</sup>, Papežíková I.<sup>1,2</sup>, Mikulíková I.<sup>1</sup>,  
Lepková Z.<sup>1</sup>, Palíková M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel,  
Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno

<sup>2</sup> Ústav zoologie, rybářství a hydrobiologie, Agronomická fakulta,  
Mendelova univerzita v Brně

E-mail: [toulovai@vfu.cz](mailto:toulovai@vfu.cz), [papezikovai@vfu.cz](mailto:papezikovai@vfu.cz), [mikulikovai@vfu.cz](mailto:mikulikovai@vfu.cz),  
[lepkovaz@vfu.cz](mailto:lepkovaz@vfu.cz), [palikovam@vfu.cz](mailto:palikovam@vfu.cz)

### Abstrakt

Cílem studie bylo ověřit účinnost technologie CaviPlasma při eliminaci rybího ektoparazita *Ichthyophthirius multifiliis*. Experiment byl proveden na juvenilních jedincích sumce velkého (*Silurus glanis*), kteří byli vystaveni vodě obsahující infekční stádia parazita ošetřené technologií CaviPlasma po dobu 80 a 420 sekund. Experiment zahrnoval pozitivní a negativní kontrolu. Přítomnost parazita byla zaznamenána pouze u pozitivní kontrolní skupiny. Hematologická analýza prokázala snížené hodnoty leukocytů a lymfocytů u pozitivní kontroly oproti ostatním skupinám a fagocytární aktivita byla významně zvýšena u ryb z pozitivní kontroly ve srovnání s negativní kontrolou. Výsledky potvrzují, že ošetření vody technologií CaviPlasma účinně eliminuje stádia *I. multifiliis* ve vodě a představuje potenciálně efektivní nástroj pro prevenci šíření tohoto parazita v akvakultuře.

### Úvod

*Ichthyophthirius multifiliis* je ektoparazitický nálevník napadající široké spektrum sladkovodních ryb. Způsobuje onemocnění ichtyoftiriózu, někdy také nazývané kožovcovitost nebo krupička, které představuje jedno z nejvýznamnějších parazitárních onemocnění v akvakultuře. Parazit napadá kůži a žábry ryb, kde způsobuje mechanické poškození tkání, zhoršení respiračních a osmoregulačních funkcí a v pokročilých případech i mortalitu. Vývojový cyklus *I. multifiliis* zahrnuje několik morfologicky i funkčně

odlišných stádií a je výrazně ovlivněn teplotou prostředí. Při vyšších teplotách probíhá jeho vývoj rychleji, což vede k intenzivnější infekci a častému výskytu v teplých obdobích roku (Matthews 2005, Palíková 2019). V posledních letech je pozornost věnována hledání nových metod, které by mohly přispět k omezení šíření tohoto parazita v chovech ryb. Jednou z inovativních technologií je zařízení CaviPlasma, kombinující nízkoenergetický plazmatický výboj a hydrodynamickou kavitaci. Tato metoda lze využít při dekontaminaci vodního prostředí a eliminaci různých mikroorganismů (Maršálek et al. 2019).

## Materiál a metodika

Experiment byl realizován s juvenilními jedinci sumce velkého (*Silurus glanis*) vážících  $6.3 \pm 1.3$  g. Celkem 80 ryb bylo rozděleno do osmi akvárií po deseti kusech. Před zahájením pokusu probíhala sedmidenní aklimatizace, během níž si ryby přivykly na nové prostředí. Po této fázi byla hladina vody v jednotlivých akváriích snížena o 10 %, aby bylo možné doplnit příslušné množství ošetřené či neošetřené vody. K přípravě infekčního materiálu byla použita odstátá kohoutková voda. Do vody v 30 L nádobě byly přidány seškraby kůže pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) přirozeně infikovaného *I. multifiliis*, spolu s vodou z Petriho misek, na nichž byl parazit kultivován in vitro. Přítomnost parazita byla ve všech vzorcích ověřena mikroskopicky. Voda s parazity byla dobře promíchána a rozdělena do šesti pětilitrových nádob. Dvě nádoby s infekční vodou byly ponechány bez ošetření pro pozitivní kontrolu, dvě byly ošetřeny pomocí zařízení CaviPlasma po dobu 80 s a další dvě byly ošetřeny po dobu 420 s. Experiment zahrnoval čtyři skupiny ryb, každou v duplikátu. Skupiny 1 a 2 představovaly negativní kontroly, do jejichž nádrží byla přilita pouze čistá odstátá kohoutková voda bez přítomnosti parazita. Skupiny 3 a 4 obdržely vodu s infekčními stádii *I. multifiliis* ošetřenou CaviPlasmou po dobu 80 s, zatímco skupiny 5 a 6 vodu ošetřenou po dobu 420 s. Do skupin 7 a 8 (pozitivní kontrola) byla přidána neošetřená voda s přítomnými stádii parazita. Ve všech případech představoval objem přidané vody 10 % celkového objemu nádrže. Po projevení typických klinických příznaků ichtyoftiriózy (bílé tečky na kůži) byly provedeny odběry vzorků. Rybám byla odebrána krev, po odběru krve ryby byly usmrceny a následně byly zhotoveny a mikroskopicky prohlédnuty seškraby z kůže a žaber. Každý jedinec byl také zvážen a změřen. Mikroskopicky byly stanoveny počty *I. multifiliis* ve vzorcích kůže a žaber. U kožních seškrabů byl počet parazitů vyhodnocen v jednotlivých zorných polích při zvětšení 40×, zatímco u žaber byly spočítány absolutní počty parazitů.

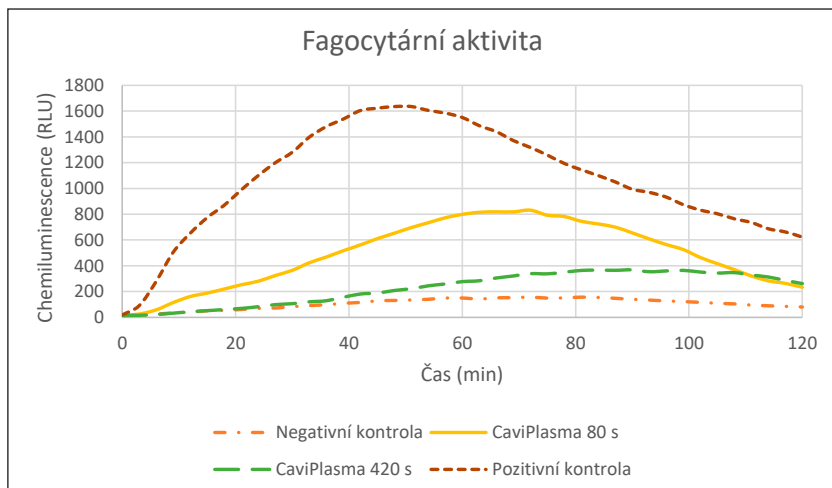
Z krevních vzorků byly určeny počty erytrocytů a leukocytů a byla stanovena fagocytární aktivita periferních fagocytů chemiluminiscenční metodou.

## Výsledky

Přítomnost *I. multifiliis* byla zjištěna pouze u ryb v pozitivní kontrolní skupině, a to u všech vyšetřených jedinců. Intenzita infekce na povrchu těla se pohybovala v rozmezí 20–70 jedinců v jednom zorném poli při zvětšení 40×, průměrný počet parazitů ze žaber dosahoval 30 jedinců na rybu. Průměrné hodnoty počtů erytrocytů a leukocytů pro jednotlivé skupiny jsou uvedeny v tabulce 1. V případě červených krvinek nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly mezi skupinami. Naproti tomu počet bílých krvinek byl významně nižší u ryb z pozitivní kontroly ve srovnání s negativní kontrolou. Statisticky významný rozdíl byl rovněž prokázán mezi skupinami CaviPlasma 420 s vs. pozitivní kontrola. Onemocnění ichtyoftiriózou mělo signifikantní vliv také na hodnoty oxidativního vzplanutí periferních fagocytů, které byly v pozitivní kontrole významně zvýšeny oproti negativní kontrole (graf č. 1).

**Tab. 1:** Hematologické parametry a fagocytární aktivita fagocytů z celkové krve. Data jsou vyjádřena jako průměry ± směrodatné odchylky. Statisticky významné rozdíly mezi skupinami jsou označeny různými indexy <sup>abc</sup>, n = 8 pro každou skupinu, PA – fagocytární aktivita, RLU – relativní světelná jednotka.

Parametry	Skupiny ryb			
	Negativní kontrola	CaviPlasma 80 s	CaviPlasma 420 s	Pozitivní kontrola
Erytrocyty [ $10^{12}/L$ ]	1.9 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.5
Leukocyty [ $10^9/L$ ]	73.8 ± 16.6 <sup>b</sup>	72.9 ± 13.5 <sup>ab</sup>	62.8 ± 24.4 <sup>ab</sup>	41.8 ± 14.1 <sup>a</sup>
Lymfocyty [%]	96.6 ± 1.7 <sup>b</sup>	93.13 ± 6.7 <sup>ab</sup>	93.8 ± 4.8 <sup>ab</sup>	84.3 ± 7.5 <sup>a</sup>
Lymfocyty [ $10^9/L$ ]	71.3 ± 16.4 <sup>bc</sup>	68.2 ± 14.8 <sup>c</sup>	58.97 ± 23.2 <sup>b</sup>	35.3 ± 13.4 <sup>a</sup>
Fagocyty [%]	3.4 ± 1.7 <sup>a</sup>	6.2 ± 6.7 <sup>ab</sup>	6.3 ± 4.8 <sup>ab</sup>	15.8 ± 7.5 <sup>b</sup>
Fagocyty [ $10^9/L$ ]	2.4 ± 1.2	4.7 ± 4.3	3.8 ± 2.8	6.5 ± 3.5
PA peak time [min]	76.5 ± 13.4 <sup>bc</sup>	64.5 ± 11.3 <sup>b</sup>	88.9 ± 12.8 <sup>c</sup>	52.9 ± 6.4 <sup>a</sup>
PA integrál [RLU. s]	13,020 ± 6,593 <sup>a</sup>	59,853 ± 90,756 <sup>ab</sup>	27,809 ± 23,109 <sup>ab</sup>	130,946 ± 106,685 <sup>b</sup>
PA integrál/1000 fagocytů [RLU. s]	295.0 ± 149.3 <sup>a</sup>	559.0 ± 483.1 <sup>ab</sup>	443.4 ± 267.3 <sup>a</sup>	1094.9 ± 830.6 <sup>b</sup>



**Obr. 1:** Fagocytární aktivita u jednotlivých skupin

## Závěr

Výsledky experimentu prokázaly, že ošetření vody technologií CaviPlasma účinně eliminovalo infekční stádia *I. multifiliis* přítomná ve vodním prostředí. U ryb, které byly vystaveny infekční vodě ošetřené CaviPlasmou, nebyl zjištěn žádný výskyt parazita. Tyto výsledky potvrzují významný vliv aplikace CaviPlasmy na životaschopnost parazita ve vodě. Vzhledem k tomu, že test byl zaměřen výhradně na volně žijící stádia *I. multifiliis*, další výzkum by měl zahrnovat také posouzení účinnosti technologie proti stádiím přítomným na hostiteli. Zároveň je vhodné ověřit možné fyziologické dopady opakovaného použití této metody na ryby a další vodní organismy.

## Literatura

Maršálek, Blahoslav, et al. Removal of *Microcystis aeruginosa* through the combined effect of plasma discharge and hydrodynamic cavitation. *Water*, 2019, 12.1: 8.

Matthews, R. A. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Advances in parasitology*, 2005, 59: 159–241.

Palíková, Miroslava, et al. *Nemoci a chorobné stavy ryb*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2019.

## Jsou ryby nesoucí QTL pro rezistenci zárukou odolnosti vůči infekčním chorobám?

Papežíková I.<sup>1,2</sup>, Mikulíková I.<sup>1,2</sup>, Vaibarová V.<sup>3</sup>,  
Pojezdal L.<sup>4</sup>, Matějčíková K.<sup>4</sup>, Blahová J.<sup>5</sup>, Mendel J.<sup>6</sup>,  
Marešová E.<sup>6</sup>, Toulová I.<sup>1,2</sup>, Palíková M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav ekologie a chorob zoonózních zvířat, zvěře, ryb a včel, Fakulta veterinární  
hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno,  
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>2</sup> Ústav zoologie, rybářství a hydrobiologie, Agronomická fakulta,  
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

<sup>3</sup> Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinární medicíny,  
Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>4</sup> Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny, Výzkumný ústav  
veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00 Brno

<sup>5</sup> Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství,  
Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno,  
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

<sup>6</sup> Ústav biologie obratlovců, Akademie věd ČR,  
Květná 170/8, 603 00 Brno

E-mail: papezikovai@vfu.cz

### Abstrakt

Tato práce se zaměřila na hodnocení odolnosti čtyř genetických linií pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) vůči pěti patogenům: viru hemoragické septikémie (VHSV), viru infekční hematopoetické nekrózy (IHNV), bakterii *Flavobacterium psychrophilum*, a parazitům kožovci rybímu (*Ichthyophthirius multifiliis*) a *Tetracapsuloides bryosalmonae*. Dvě linie ryb nesly QTL spojené s rezistencí vůči vybraným patogenům. Byla sledována mortalita, vybrané imunitní parametry (počet leukocytů a fagocytární aktivita) a zátěž patogeny. U infekce *F. psychrophilum* byla překvapivě nejvyšší mortalita zjištěna u linie s deklarovanou genetickou rezistencí, což naznačuje vliv dalších faktorů, například odlišné virulence kmenů nebo interakcí mezi genetickou výbavou a prostředím. Při infekci *I. multifiliis* vykazovala odolná linie zpočátku vyšší parazitární zátěž, avšak později efektivnější eliminaci parazita. U virových infekcí a flavobakterií byla nejvyšší mortalita spojena s vyšší fagocytární aktivitou a počtem leukocytů,

což může odrážet deregulovanou imunitní odpověď. Výsledky ukazují, že rezistence ryb vůči onemocnění je komplexní vlastností závislou na interakci mezi genotypem, patogenem a prostředím. Testování odolných linií před použitím v praxi by proto mělo vždy probíhat v podmínkách konkrétního chovu.

## Úvod

V intenzivní akvakultuře představují infekční onemocnění jeden z hlavních problémů ohrožujících zdraví ryb a produkci. Tradičně byla kontrola nemocí založena především na používání antibiotik a chemoterapeutik. Tyto přístupy však čelí rostoucím omezením v důsledku narůstající rezistence patogenů, omezeného počtu schválených léčiv a rostoucího důrazu na environmentálně udržitelné postupy. Akvakultura se proto stále více zaměřuje na preventivní strategie (Cabello et al., 2013; Wright et al., 2023). Jednou z perspektivních preventivních strategií je šlechtění geneticky odolných linií ryb vykazujících zvýšenou přirozenou odolnost proti některým patogenům (Leeds et al., 2010).

Tato studie shrnuje výsledky experimentů, ve kterých byla testována odolnost různých genetických linií pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) vůči infekci virem hemoragické septikémie (VHSV), virem infekční hematopoetické nekrózy (IHNV), infekci *Flavobacterium psychrophilum* (původci syndromu plůdku pstruha duhového, RFTS), infekci kožovcem rybím (*Ichthyophthirius multifiliis*) a infekci *Tetracapsuloides bryosalmonae* (původci proliferativního onemocnění ledvin, PKD). Rezistence vůči proliferativnímu onemocnění ledvin byla testována v terénních podmínkách, rezistence vůči ostatním chorobám byla testována v laboratorním prostředí.

## Materiál a metodika

Experimenty byly provedeny na čtyřech různých genetických liniích pstruha duhového. Linie A a B nenesly QTL (quantitative trait loci) spojené s rezistencí vůči testovaným patogenům. Linie C nesla QTL spojené s rezistencí k syndromu plůdku pstruha duhového (RFTS) a linie D nesla QTL pro rezistenci vůči RFTS a kožovci.

Před zahájením laboratorních experimentů byly ryby po dobu 14 dní aklimatizovány na laboratorní podmínky. Po celou dobu pokusů byla kontrolována a zaznamenávána kvalita vody a byly měřeny základní parametry (pH, amoniakální dusík, obsah dusitanů, obsah chloridů, obsah kyslíku a teplota). Po celou dobu experimentů bylo sledováno chování ryb a jejich mortalita, ryby byly 2× denně krmeny komerčním granulovaným krmivem.

## Laboratorní experimenty

**Tab. 1:** Laboratorní experimenty, provedení a sledované parametry

	IHNV, VHSV	<i>F. psychrophilum</i>	<i>I. multifiliis</i>
Experimentální skupiny	Linie A, B, C: kontrola Linie A, B, C: infekce IHNV, Linie A, B, C: infekce VHSV	Linie B, C, D: infekce kmenem 560/7 Linie B, C, D: infekce kmenem 6739/7	Linie B, C, D: infekce I. multifiliis
Forma infekce	Koupel 2 h	Koupel 2 h	Kohabitace s infikovanou rybou 24 h
Teplota vody	11 °C	13 °C	13 °C
Délka experimentu	30 dní	28 dní	14 dní
Odběry/analýzy v průběhu experimentu	-	Uhynulé ryby, kultivace z vnitřních orgánů (TYES agar, 17 °C, 5 dní)	Odběry po 7 dnech: kožní sliz, žaberní epitel
Odběry na konci experimentu	Krev	Krev Kultivace z vnitřních orgánů (TYES agar, 17 °C, 5 dní)	Kožní stěr, žaberní epitel, krev
Sledované parametry	Mortalita Patoanatomický nález Počty leukocytů Fagocytární aktivita Interferon gamma Specifické protilátky	Mortalita Patoanatomický nález Počty leukocytů Fagocytární aktivita Přítomnost <i>F. psychrophilum</i> ve vnitřních orgánech	Mortalita Patoanatomický nález Počty parazitů na kůži/žábrách Počty leukocytů Fagocytární aktivita

Počty leukocytů byly stanoveny počítáním v Bürkerově komůrce. Fagocytární aktivita byla stanovena chemiluminiscenční metodou, interferon gamma a hladina specifických protilátek byly stanoveny pomocí ELISA. Počty parazitů na kůži/žábřácích u infekce *I. multifiliis* byly stanoveny mikroskopicky. Infekce *F. psychrophilum* byla kontrolována kultivačně.

### Terénní experiment (rezistence vůči PKD)

Rezistence vůči PKD byla testována v chovu s endemickým výskytem tohoto onemocnění. Ryby linií B a C byly přivezeny do chovu a umístěny ve společné nádrži. Po šesti týdnech byly ryby odloveny, usmrceny, byl vyhodnocen stupeň zvětšení sleziny a ledvin a zjištěna zátěž *T. bryosalmonae* pomocí qPCR (ze vzorku kaudální ledviny). Ryby dvou použitých linií byly rozlišeny genetickou analýzou vzorku ocasní ploutve.

## Výsledky a diskuze

### Infekce IHNV a VHSV

**Tab. 2:** Mortalita, počty leukocytů, fagocytární aktivita a interferon gamma u ryb infikovaných IHNV a VHSV. Statisticky významné rozdíly mezi liniemi jsou označeny rozdílnými písmeny.

	Linie	% přeživších ryb na konci pokusu	Počty leukocytů (G/L)	Fagocytární aktivita, integrál/1000	Fagocytární aktivita, peak-time (min)	Interferon gamma (pg/mL)
IHNV	A	100	35,1 ± 17,6	62,9 ± 23,9 <sup>a</sup>	54,4 ± 15,2	98,0 ± 16,4 <sup>ab</sup>
	B	82	46,5 ± 17,6	127,7 ± 58,0 <sup>b</sup>	45,0 ± 4,9	95,7 ± 12,0 <sup>b</sup>
	C	96	29,6 ± 8,9	62,1 ± 35,6 <sup>a</sup>	52,1 ± 5,5	69,9 ± 27,2 <sup>a</sup>
VHSV	A	52	37,3 ± 11,8	66,4 ± 63,3	56,6 ± 7,2	56,6 ± 7,2
	B	50	46,8 ± 9,7	77,7 ± 54,5	55,5 ± 9,5	55,5 ± 9,5
	C	62	41,9 ± 14,6	49,6 ± 34,8	53,6 ± 9,0	53,6 ± 9,0

U infekce IHNV i VHSV byla zaznamenána nejvyšší mortalita u skupiny B (jedna ze dvou skupin bez genetické odolnosti). U této skupiny byla zjištěna i nejvyšší fagocytární aktivita a nejvyšší počty leukocytů. Mezi skupinami nebyly zjištěny významné rozdíly v hladinách specifických protilátek.

### Infekce *F. psychrophilum*

**Tab. 3:** Mortalita, počty leukocytů a fagocytární aktivita u ryb infikovaných *F. psychrophilum* (kmeny 560/7 a 6739/7). Statisticky významné rozdíly mezi liniemi jsou označeny rozdílnými písmeny.

	Linie	% přežívších ryb na konci pokusu	Počty leukocytů (G/L)	Fagocytární aktivita, integrál/1000	Fagocytární aktivita, peak-time (min)
<i>F. psychrophilum</i> 560/7	B	86	39,3 ± 12,2	35,6 ± 34,2	23,4 ± 9,1
	C	59	40,1 ± 12,8	51,8 ± 35,4	37,2 ± 26,8
	D	72	42,8 ± 18,9	43,8 ± 49,0	19,2 ± 23,7
<i>F. psychrophilum</i> 6739/7	B	97	42,9 ± 11,5	23,4 ± 9,1	70,8 ± 4,8 <sup>a</sup>
	C	78	51,0 ± 26,9	37,2 ± 26,8	45,0 ± 18,6 <sup>b</sup>
	D	92	37,5 ± 11,7	19,2 ± 23,7	43,0 ± 13,9 <sup>b</sup>

U všech ryb, které uhynuly v průběhu pokusu, byla zjištěna masivní systémová infekce *F. psychrophilum*. U ryb, které přežily do konce experimentu, nebyla již přítomnost původce zjištěna. Nejvyšší mortalita byla překvapivě zaznamenána u linie C s deklarovanou zvýšenou odolností vůči RFTS, a to u obou testovaných kmenů *F. psychrophilum*. U této skupiny byla zjištěna i nejvyšší fagocytární aktivita (integrál) a u skupiny infikované kmenem 6739/7 i nejvyšší počty leukocytů.

### Infekce *I. multifiliis*

**Tab. 4:** Počty trofontů *I. multifiliis* na kůži a na žábkách 7 a 14 dní po experimentální infekci. Statisticky významné rozdíly mezi liniemi jsou označeny rozdílnými písmeny. Statisticky významné rozdíly mezi 7 a 14 dny po infekci jsou označeny tučně.

		linie		
		B	C	D
7 dní po infekci	Kůže	1,17 ± 0,75 <sup>ab</sup>	1,0 ± 1,26 <sup>a</sup>	7,33 ± 6,19 <sup>b</sup>
	Žábry	13,33 ± 8,71 <sup>ab</sup>	9,0 ± 5,06 <sup>a</sup>	33,17 ± 21,25 <sup>b</sup>
14 dní po infekci	Kůže	1,0 ± 1,1	<b>3,83 ± 2,64</b>	<b>1,33 ± 2,8</b>
	Žábry	<b>29,33 ± 11,93</b>	<b>30,83 ± 14,63</b>	28,33 ± 24,06

**Tab. 5:** Počty leukocytů a fagocytární aktivita u ryb infikovaných *I. multifiliis*. Statisticky významné rozdíly mezi liniemi jsou označeny rozdílnými písmeny. Statisticky významné rozdíly mezi 7 a 14 dny po infekci jsou označeny tučně.

		linie		
		B	C	D
7 dní po infekci	Leukocyty	45,5 ± 13,4	48,2 ± 12,3	33,7 ± 3,9
	Fagocytární aktivita, integral/1000	29,2 ± 17,8	44,6 ± 33,0	20,8 ± 13,5
	Fagocytární aktivita, peak-time	64,5 ± 11,2 <sup>a</sup>	56,5 ± 13,3 <sup>a</sup>	39,5 ± 6,1 <sup>b</sup>
14 dní po infekci	Leukocyty	37,0 ± 15,1	<b>22,8 ± 10,7</b>	27,5 ± 7,7
	Fagocytární aktivita, integral/1000	64,4 ± 54,7	69,4 ± 35,4	33,9 ± 26,5
	Fagocytární aktivita, peak-time	64,0 ± 10,5	58,0 ± 13,4	<b>81,5 ± 29,4</b>

V průběhu experimentu nebyly ani u jedné z experimentálních skupin zaznamenány úhyny. Sedm dní po infekci byly překvapivě nejvyšší počty parazitů nalezeny u skupiny D s geneticky danou zvýšenou rezistencí vůči *I. multifiliis*. U této skupiny byla zjištěna i nejnižší fagocytární aktivita – nejnižší intenzita reakce (integrál) i nejdelší čas nástupu reakce (peak-time) a také nejnižší počty leukocytů. 14 dní po infekci však počty trofontů u této skupiny poklesly, na rozdíl od dalších dvou skupin, kde se počty trofontů proti 7 dnům po infekci výrazně zvýšily, především na žábách.

### Infekce *T. bryosalmonae*

V průběhu pokusu nebyly ani u jedné ze skupin zaznamenány úhyny. Většina ryb měla zvětšenou slezinu (linie B: 70 %, linie C: 65 %) a zvětšené ledviny (linie B: 90 %, linie C: 100 %) a u 100 % ryb byla pomocí qPCR detekována přítomnost DNA *T. bryosalmonae*. Ve stupni zvětšení sleziny/ledvin ani v zátěži *T. bryosalmonae* nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinami.

Hlavním cílem studie bylo otestovat odolnost vůči *F. psychrophilum* a vůči kožovci, protože dvě z testovaných linií nesly QTL pro zvýšenou rezistenci vůči těmto patogenům. Další dva experimenty (rezistence vůči virovým chorobám a vůči PKD) byly provedeny spíše doplňkově. U infekce *F. psychrophilum* byla navzdory očekávání zjištěna nejvyšší mortalita u ryb s deklarovanou genetickou rezistencí vůči tomuto patogenu, a to u obou

použitých kmenů bakterie. Na přežití ryb má vliv mnoho faktorů. Ryby s genetickou rezistencí vůči konkrétnímu patogenu mohou naopak vykazovat sníženou odolnost vůči jinému onemocnění a/nebo vůči jiným stresorům. Dalším faktorem, který je třeba brát v úvahu, je kmen patogenu, kterému byly ryby vystaveny. Kmeny *F. psychrophilum* použité v této studii se mohly lišit (antigenně i virulencí) od kmenů použitých při testování a při výběru jedinců pro šlechtění na odolnost. Ryby deklarované jako geneticky odolné je tedy třeba otestovat v podmínkách konkrétního chovu. Testování by mělo zahrnovat nejen mortalitu, ale také produkční parametry, aby bylo možné posoudit ekonomickou návratnost investice do geneticky odolných ryb.

U experimentu, v němž byly ryby infikovány kožovcem, měla sedm dní po infekci linie s deklarovanou geneticky podmíněnou rezistencí vůči kožovci ve srovnání se dvěma neodolnými liniemi výrazně vyšší počty trofontů na kůži i na žábrách. Po dalším týdnu se však u této linie počty parazitů snížily; na kůži velmi výrazně, na žábrách mírně. U dalších dvou linií ryb došlo naopak k výraznému zvýšení počtu parazitů. Zdá se, že odolná linie nevykazuje zvýšenou rezistenci vůči počáteční infekci, ale má efektivnější mechanismy následné kontroly a eliminace parazita.

U experimentů, v nichž byly zaznamenány úhyny ryb (challenge IHNV, VHSV a *F. psychrophilum*) byla nejvyšší mortalita téměř bez výjimky spojena s nejvyššími počty leukocytů v krvi a s nejvyšší fagocytární aktivitou. Zvýšená intenzita fagocytózy indikuje zvýšenou stimulaci nespecifické imunity a její připravenost k obraně. Interpretace tohoto výsledku se může lišit podle kontextu experimentu. U zdravých ryb, které nebyly vystaveny patogenům, signalizuje vyšší fagocytární aktivita vyšší vrozenou schopnost bránit se infekci. Také po vakcinaci nebo podávání imunostimulantů může vyšší fagocytární aktivita indikovat posílení nespecifické imunity. Při infekci však může kombinace zvýšené fagocytární aktivity a vyššího počtu leukocytů naznačovat nadměrnou nebo deregulovanou imunitní odpověď, vyvolanou silnou infekční zátěží či stresovým stimulem. Takto aktivovaný imunitní systém nemusí nutně vést k efektivní eliminaci patogenu, ale může přispívat k fyziologickému přetížení organismu a následné mortalitě.

## Závěr

Výsledky studie ukazují, že genetická rezistence ryb vůči infekčním onemocněním není univerzální a její projevy mohou záviset na konkrétním patogenu, jeho kmeni i podmínkách chovu. Linie pstruha duhového s deklarovanou odolností nevykazovaly vždy očekávané vyšší přežití, což zdůrazňuje nutnost ověřování jejich rezistence v reálných provozních podmínkách.

## Poděkování

Tato práce byla financována z projektu Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb, QK 21010030.

## Literatura

- Wright A, Li X, Yang X, Soto E, Gross J. Disease prevention and mitigation in US finfish aquaculture: A review of current approaches and new strategies. *Rev Aquac.* 2023;15(4):1638–53. doi:10.1111/raq.12807.
- Cabello FC, Godfrey HP, Tomova A, Ivanova L, Dölz H, Millanao A, et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol.* 2013;15(7):1917–42. doi:10.1111/1462-2920.12134.
- Leeds TD, Silverstein JT, Weber GM, Vallejo RL, Palti Y, Rexroad CE, et al. Response to selection for bacterial cold water disease resistance in rainbow trout. *J Anim Sci.* 2010;88(6):1936–46. doi:10.2527/jas.2009-2538.

## Je možné ovlivnit zdravotní stav pstruha duhového krmnými aditivami?

Palíková M.<sup>1,2</sup>, Mareš J.<sup>1</sup>, Mikulíková I.<sup>1,2</sup>, Papežíková I.<sup>1,2</sup>,  
Lepková Z.<sup>2</sup>, Toulová I.<sup>1,2</sup>, Všetičková L.<sup>1</sup>, Poštulková E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav zoologie, rybářství a hydrobiologie, Agronomická fakulta,  
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

<sup>2</sup>Veterinární univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,  
Ústav ekologie a chorob zoovířat, zvíře, ryb a včel,  
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

E-mail: palikovam@vfu.cz

Abstrakt

Současná akvakultura usiluje o produkci zdravých ryb s minimálním využitím antibiotik a s důrazem na udržitelnost a welfare. K dosažení tohoto cíle může výrazně přispět optimalizace krmných směsí pomocí přírodních aditiv, která stimulují imunitní systém, podporují zdravý střevní mikrobiom a snižují stres. Studie experimentálně hodnotila vliv krmných aditiv – probiotik, β-glukanů, selenu (Se) a zinku (Zn) – na zdravotní a produkční parametry pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), a to jak v klidových podmínkách, tak po zátěži ve formě experimentální infekce bakterií *Aeromonas salmonicida*. Bylo zjištěno, že pozitivní účinky v klidovém stavu nemusí korelovat se zvýšenou odolností vůči specifické infekci. Probiotika (kontinuální podávání) měla pozitivní vliv na produkční parametry (růst, konverze krmiva), ale nevyšila odolnost organismu po infekční zátěži; po cyklické suplementaci byla zaznamenána dokonce vyšší mortalita ryb. β-glukany v koncentraci 0,5 % prokázaly pozitivní imunomodulační vliv (zvýšení počtu leukocytů), vyšší dávky ovlivnily metabolismus ryb. Selen ve vyšší dávce (3 mg/kg) zlepšil červený krevní obraz a fagocytární aktivitu v klidových podmínkách, ale jeho vliv se neprokázal při infekci. Naopak, vyšší dávky zinku (30 mg/kg) a jeho kombinace se selenem negativně ovlivnily imunitní parametry při zátěži.

## Úvod

Současné trendy ve výživě kladou důraz na produkci kvalitních a zdravých surovin s minimálním využitím chemických léčiv, zejména antibiotik. V oblasti živočišné výroby včetně akvakultury se efektivita krmiv posuzuje nejen z hlediska růstové výkonnosti, ale především z pohledu jejich vlivu na zdravotní stav a celkovou pohodu zvířat. Nelze zapomínat ani na udržitelnost, která je v akvakultuře definována jako soubor postupů, jež splňují současné i budoucí společenské potřeby pro výrobu potravin a zároveň nezatěžují životní prostředí. Abychom dosáhli těchto cílů, je potřeba optimalizovat krmné směsi cíleným využitím aditiv ideálně přírodního původu, která pozitivně působí na zdraví ryb, přičemž nevykazují vedlejší negativní účinky na organismus ani ekosystém. Vhodná aditiva pomáhají stimulovat imunitní systém, podporují zdravý střevní mikrobiom, snižují účinky stresu a celkově představují prevenci chorob, čímž zásadně omezují potřebu používání léčiv. Cílené a vědeckými výsledky podložené využití aditiv představuje nejen efektivní cestu k udržení vysokého standardu zdraví a welfare ryb, ale je i klíčovým příspěvkem k produkci bezpečných a udržitelných potravin pro lidskou populaci. Mezi nejběžněji používaná krmná aditiva patří probiotika a prebiotika, rostlinné extrakty, organické kyseliny, imunostimulanty a antioxidanty.

Tato studie je kompilátem hodnocení vlivu experimentálně použitých aditiv v krmivu pro pstruha duhového, konkrétně hodnotí vliv probiotik,  $\beta$ -glukanů, selenu a zinku. Aditiva byla zvolena na základě uváděného pozitivního vlivu na zdravotní stav organismu:

- probiotika podporují zdravý rozvoj střevní mikroflóry, což má pozitivní dopad nejenom na trávení, ale i na imunitu a celkovou pohodu organismu,
- $\beta$ -glukany vykazují komplexní pozitivní účinky na zdraví živočichů, podporují imunitní systém, přičemž stimulují především nespecifickou imunitu, zejména fagocytární aktivitu. Tím přispívají ke zvýšení odolnosti vůči patogenům. Působí rovněž jako probiotika, podporují zdravou střevní mikroflóru,
- antioxidanty (Se a Zn) snižují oxidační stres, chrání buněčné struktury před poškozením volnými radikály a podporují imunitní funkce.

## Materiál a metodika

Všechny experimenty byly realizovány na pstruhu duhovém (*Oncorhynchus mykiss*), v kontrolovaných podmínkách experimentálních recirkulačních zařízení. Před zahájením pokusu byly ryby po dobu 2 týdnů aklimatizovány

na laboratorní podmínky. Krmení probíhalo 2× denně. Ve 14denních intervalech bylo přistoupeno ke kontrolnímu vážení a úpravě krmné dávky. Další informace o jednotlivých pokusech jsou uvedeny v Tab. 1.

**Tab. 1:** Charakteristika jednotlivých experimentů

	probiotika	β-glukany	Se a Zn
aditivum	Lactiplantibacillus plantarum R2 Bioceno1™	beta-1,3-1,6-glukany z kvasnic	anorganické sloučeniny: Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> , ZnSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O
množství aditiva	10 <sup>8</sup> CFU/g krmiva	0,2–1 %	Se 1,5/3 mg /1 kg krmiva; Zn 15/30 mg /1 kg krmiva
varianty	1. kontrola (K) 2. probiotikum kontinuálně (P) 3. probiotikum střídavě (PK) 4P+3 K	1. kontrola (K) 2. 0,2 % 3. 0,5 % 4. 1 %	1. kontrola (K) 2. Se 1,5 3. Se 3 4. Zn 15 5. Zn 30 6. Se 3 + Zn 30
nosné krmivo	EFICO Enviro 921 3 mm	EFICO Enviro 921 3 mm	EFICO Enviro 921 3 mm
množství krmiva / den	2,68 % hmotnosti obsádky	1,5 % hmotnosti obsádky	1,75 % hmotnosti obsádky
celkový počet ryb ve variantě	100	17	15
opakování	3	4	3
délka krmného testu v týdnech	7	8	6
délka infekčního testu v týdnech	3	-	5
počet ryb ve variantě po infekci	30	-	20
opakování	2	-	1
krmivo	K nosné (kontrolní) P a PK s přídatkem probiotika	-	stejně jako v krmné části

Po celou dobu experimentů byla kontrolována kvalita vody a měřeny základní biochemické parametry (amoniakální dusík, dusitany, chloridy, teplota, množství rozpuštěného kyslíku a pH vody). Po ukončení krmné části byla část ryb usmrcena a byly stanovovány kondiční a produkční parametry, hematologické, imunologické a plazmatické ukazatele z krve (Tab 2). V testech s probiotiky a přidavkem selenu a zinku byly zbylé ryby vystaveny zátěžovému infekčnímu testu, experimentální challenge *A. salmonicida* (kmen 89409) formou 30minutové koupele. Po ukončení zátěžových testů byly ryby usmrceny a byly sledovány hematologické, imunologické a plazmatické ukazatele, dále byla provedena pitva ryb a kontrolní bakteriologická kultivace ze sleziny.

**Tab. 2:** Sledované parametry

Kondiční parametry (sledovány pouze v první fázi pokusu)	celková a standardní délka, celková hmotnost, hmotnost ryby bez vnitřností, hmotnost jater a hmotnost sleziny; Fultonův koeficient, konverze krmiva, specifická rychlost růstu, hepatosomatický index, splenosomatický index
Hematologické parametry	hemoglobin, celkový počet erytrocytů, hematokrit, střední barevná koncentrace, střední objem erytrocytu, hemoglobin erytrocytu
Imunitní parametry	celkový počet leukocytů, oxidativní vzplanutí periferních fagocytů (integrál chemiluminiscence, peak-time), titer specifických protilátek*
Plazmatické parametry	alaninaminotransferáza, aspartátaminotransferáza, alkalická fosfatáza, albumin, cholesterol, kreatinin, glukóza, urea, celková bílkovina, triacylglyceroly, vápník, anorganický fosfor, hořčík, laktátdehydrogenáza

\*stanovovány pouze u experimentu s přidavkem Se a Zn

## Výsledky a diskuze

Souhrnné výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

**Tab. 3:** Souhrnné výsledky prováděných testů

Aditivum	Zátěžový test	PP	HP	IP	PIP
probiotika kontinuálně	bez zátěže	+	+	bvo.	bvo.
	challenge	ns.	bvo.	-	bvo.
probiotika cyklicky	bez zátěže	+	bvo.	-	bvo.
	challenge	ns.	bvo.	--	bvo.
β-glukany 0,2 %	bez zátěže	bvo.	bvo.	bvo.	bvo.
β-glukany 0,5 %	bez zátěže	bvo.	bvo.	+	+
β-glukany 1 %	bez zátěže	bvo.	bvo.	bvo.	+
Se	bez zátěže	bvo.	++ (Se 3)	+ (Se 3)	bvo.
	challenge	ns.	bvo.	+ (Se 3)	bvo.
Zn	bez zátěže	bvo.	bvo.	+	-(Zn 30)
	challenge	ns.	bvo.	-- (Zn 30)	bvo.
Se + Zn	bez zátěže	bvo.	bvo.	+	bvo.
	challenge	ns.	bvo.	--	bvo.

PP: produkční parametry, HP: hematologické parametry, IP: imunologické parametry, PIP: plazmatické parametry, bvo. bez výrazného ovlivnění, + spíše pozitivně ovlivněno, ++ pozitivně ovlivněno, - spíše negativně ovlivněno, -- negativně ovlivněno, ns. nesledováno

Přídavek probiotik ovlivnil pozitivně produkční ukazatele ryb, došlo k navýšení hmotnosti, zvýšení specifické rychlosti růstu a ke zlepšení konverze krmiva oproti kontrolní skupině. Tyto trendy však nebylo možné potvrdit statisticky. Přídavek β-glukanů ve vyšších koncentracích způsobil zvýšení hodnot hepatosomatického indexu oproti kontrolní skupině. Tento parametr může souviset, mimo jiné, s množstvím tuku a glykogenu uloženého v játrech. U těchto skupin bylo dále zjištěno navýšení koncentrace glukózy v krevní plazmě. Přídavek 0,5 % β-glukanů se navíc projevil zvýšením celkového počtu leukocytů. Nebyl zjištěn žádný statistický významný vliv přídavku Se/Zn ani jejich kombinace na kondiční a produkční parametry ryb. Přídavek selenu v nižší koncentraci neměl vliv na žádný ze sledovaných ukazatelů, vyšší koncentrace se projevila navýšením celkového počtu

červených krvinek a zvýšením parametrů fagocytární aktivity oproti kontrolní skupině. Přídavek zinku se projevil spíše negativně, zejména v rámci sledovaných imunitních ukazatelů.

## Shrnutí

- Probiotika. Po 7 týdnech aplikace byl u testovaného bakteriálního kmene sledován pozitivní trend účinku na produkční parametry pstruha duhového, a to i u střídavé suplementace. Zároveň bylo u kontinuálně suplementovaných ryb zjištěno významné navýšení transportní kapacity krve pro kyslík. Ani jedna z krmných strategií však nevedla ke zvýšení odolnosti ryb vůči infekci *A. salmonicida*. Kumulativní mortalita ryb, kterým bylo probiotikum podáváno přerušovaně, byla dokonce významně vyšší než u zbylých skupin. Pro chovy, které se opakovaně potýkají s furunkulózou lososovitých ryb, nepředstavuje v této podobě uvedené krmné aditivum řešení.
- Přídavek  $\beta$ -glukanů. Účinek na imunitní systém se projevil zvýšením celkového počtu leukocytů u ryb krmených přídatkem  $\beta$ -glukanů v koncentraci 0,5 %. Obě vyšší koncentrace přídatku  $\beta$ -glukanů do krmiva ovlivnily metabolismus bílkovin, glukózy, triacylglycerolů a některých minerálů a hepatosomatický index.
- Přídavek minerálů. U ryb bez zátěže se nejlépe projevil přídavek selenu ve vyšší dávce, kdy došlo ke statisticky významnému ovlivnění ukazatelů červeného krevního obrazu a k rychlejšímu nástupu oxidativního vzplanutí periferních fagocytů. Po experimentální infekci se však vliv přídatku prvků neprokázal. U skupiny s přídatkem vyšší dávky selenu došlo k podobným změnám jako u kontrolní skupiny. Naopak kombinace obou prvků a přídavek vyšší dávky zinku se projevil snížením hodnot některých imunitních parametrů.

## Závěr

Aplikace aditiv má **diferencovaný vliv** na produkční ukazatele, hematologické, imunitní a metabolické ukazatele. Pozitivní účinky v klidových podmínkách (zejména u probiotik na produkci a selenu na imunitu/krevní obraz) **nemusí nutně korelovat se zvýšenou odolností** vůči specifické infekční zátěži (zde *A. salmonicida*), z čehož vyplývá, že některá z testovaných aditiv nejsou vhodným řešením pro chovy ohrožené furunkulózou.

## Doporučení pro produkci krmiv a chov pstruha duhového

- Začlenit probiotika do krmných směsí pro pstruha duhového, pokud je prioritou zlepšení růstové výkonnosti a konverze krmiva (PP) v chovech s nízkým rizikem infekce. Doporučuje se spíše kontinuální krmná strategie před přerušovanou.
- Pro chovy s vyšší infekční zátěží je vhodné zvážit přídavek  $\beta$ -glukanů v koncentraci kolem 0,5 %, která prokázala pozitivní imunomodulační vliv (zvýšení počtu leukocytů). Vyšší koncentrace by měly být zkoumány s ohledem na možné ovlivnění metabolických procesů v jaterní tkáni (HSI, glukóza).
- Pro posílení nespecifické imunity a červeného krevního obrazu je doporučeno cílené a opatrné doplňování selenu ve vyšších, ale ne toxických dávkách (např. Se 3 mg/kg krmiva). Je třeba se vyvarovat vyšších dávek zinku (např. Zn 30 mg/kg krmiva) a jejich kombinací se selenem, které v rámci testu negativně ovlivnily imunitní parametry při zátěži.

## Poděkování

Tato práce byla podpořena NAZV ČR projekt QK21010030 Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb.

## Literatura

Použitá literatura je k dispozici u autorů.

## Vliv použitého krmiva a krmné strategie na nutriční hodnotu pstruha duhového

Mareš J., Poštulková E.,

*Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav zoologie,  
rybářství, hydrobiologie a včelařství, Zemědělská 1, 613 00 Brno*

E-mail: [jan.mares@mendelu.cz](mailto:jan.mares@mendelu.cz), [eva.postulkova@mendelu.cz](mailto:eva.postulkova@mendelu.cz)

### Abstrakt

V příspěvku jsou shrnuty výsledky analýz svaloviny pstruha duhového chovaného v různých podmínkách a krmeného rozdílnými krmnými směsmi a dávkami. Hodnoceny byly základní nutriční parametry, obsah tuku, zastoupení mastných kyselin a výtěžnost. Cílem studie bylo posoudit, zda typ komerční krmné směsi a rozdílná intenzita krmení ovlivňují nutriční hodnotu rybího masa a výtěžnost. Výsledky ukázaly, že rozdíly mezi variantami byly minimální.

### Úvod

Rybí maso je bezesporu považováno za kvalitní potravinu s vysokou nutriční hodnotou a stravitelností. Spektrum masných kyselin v rybím masu je považováno za klíčové z hlediska pozitivních přínosů pro konzumenta. Podmínky prostředí spolu se zvolenou krmnou strategií rozhodujícím způsobem ovlivňují kvalitu produkovaného rybího masa. Vedle rybího druhu a věku ryb tyto vnější faktory rozhodují o jejich nutriční hodnotě.

S vývojem kompletních krmných směsí tak dostává chovatel do rukou účinný nástroj na ovlivnění kvality produkovaných ryb. Jeho cílem je dosáhnout rychlého růstu ryb při udržení příznivé hodnoty krmných nákladů, dobrého zdravotního stavu a standardní kvality produkované potraviny. Volbou krmiva pak určuje obsah živin a energie, které dodává chovaným rybám. Vysoký obsah zejména neproteinové energie ovlivňuje obsah tuku ve svalovině i na vnitřnostním komplexu a následně i výtěžnost ryb. Zvolená intenzita krmení má přímý dopad na intenzitu růstu a dosaženou hodnotu krmného koeficientu. Vedle produkčních parametrů ovlivňuje i obsah a složení tuku v těle ryby. Komponenty použité v krmných směsích přímo ovlivňují kvalitu rybího masa, složení tuku, tedy i spektrum mastných kyselin a mohou ovlivnit i senzorké parametry. Některé doplňky krmných směsí cíleně ovlivňují konkrétní parametry (nejčastěji spektrum mastných kyselin nebo barvu rybího masa).

## **Materiál a metodika**

Příspěvek představuje vyhodnocení dat získaných primárně z komerčního chovu lososovitých ryb v recirkulačním systému firmy BioFish, s.r.o. Právníkov u Kamenice nad Lipou a chovu v experimentálních recirkulačních systémech na Mendelově univerzitě v Brně. Doplnkově je uveden i přehled nutriční hodnoty ryb pocházejících z několika produkčních systémů v České republice. Testován byl vliv použité krmné směsi na složení rybího masa a různé výše krmné dávky.

Složení svaloviny bylo hodnoceno podle standardních parametrů, tedy obsahu sušiny ve svalovině ryb (vysušení při 105 °C), obsahu tuku (metodou dle Soxhleta, extrakcí diethyletherem) a proteinů (metodou dle Kjeldahla a použitím koeficientu 6,25), případně obsah popela. Prezentované hodnoty byly získány vždy ze skupiny 3–6 ryb každé hodnocené varianty. Lipidy pro stanovení mastných kyselin byly extrahovány methanolchloroformovým roztokem (dle Folch et al., 1957). Spektrum mastných kyselin bylo analyzováno metodou kapilární plynové chromatografie. Byl použit chromatograf HP 4890 (Hewlett-Packard, USA) s kapilární kolonou DB-S3 (60 m × 0,25 mm × 0,25 μm). K výstupu z kolony je připojen plameno-ionizační detektor (FID). Všechny uvedené parametry byly statisticky vyhodnoceny s použitím analýzy variance (ANOVA) a následným testováním. Statistická významnost rozdílů je vyznačena v tabulkách s pomocí písmen. Standardně je použito testování na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

Výtěžnost byla stanovena jako procentický podíl hmotnosti ryby bez vnitřností k hmotnosti ryby. Uvedené průměrné hodnoty doplněné směrodatnou odchylkou (SD) a variačním koeficientem (Vx) byly získána ze souboru 6–20 ks ryb pro každou z hodnocených variant.

## **Výsledky a diskuze**

### *Vliv použitého krmiva na kvalitu svaloviny pstruha duhového*

Ověření vlivu použitého krmiva na kvalitu pstruha duhového bylo realizováno v provozních podmínkách RAS v Právníkově. Pro hodnocení byly využity dva druhy standardně nabízených krmných směsí od zahraničních výrobců obdobného nutričního složení (40 % dusíkatých látek a 27 % tuku). Výše krmné dávky byla stanovena podle doporučení výrobce, ryby pro vyhodnocení pocházely ze standardního produkčního chovu.

Při porovnání vlivu jednotlivých krmných směsí využívaných v recirkulačním systému dánského typu nebyl zjištěn vliv použitého krmiva na složení svaloviny produkovaných ryb.

**Tab. 1:** *Výtěžnost ryb a nutriční hodnota svaloviny při použití dvou krmných směsí.*

	Krmivo 1	Krmivo 2
Výt. ± SD	88,05 ± 1,94	91,44 ± 1,44
Vx	2,20	1,57
Sušina ± SD	22,72 ± 0,41	22,39 ± 0,51
Vx	1,80	2,28
Proteiny ± SD	19,27 ± 0,03	19,36 ± 0,24
Vx	0,16	1,24
Tuk ± SD	2,19 ± 0,56	1,61 ± 0,29
Vx	25,57	18,01

### *Vliv výše denní krmné dávky*

Součástí nabídky krmiv jednotlivých dodavatelů je doporučená velikost krmných částic pro jednotlivé velikostní kategorie chovaných ryb, doporučená intenzita krmení, tj. velikost denní krmné dávky v závislosti na aktuálně zjištěné teplotě vody a obsahu kyslíku. V souvislosti s rozdílnou chovatelskou strategií a v návaznosti na minimalizaci zatížení vody v chovném systému a následně i v recipientu, doporučují někteří výrobci dvě úrovně intenzity krmení. První z nich vychází z optimálního poměru mezi rychlostí růstu a spotřebovaným krmivem, tj. poměr mezi rychlostí růstu a hodnotou krmného koeficientu. Tato dávka zajišťuje vyšší rychlost růstu a vyšší hodnotu krmného koeficientu (FCR). Druhá nižší intenzita krmení optimalizuje hodnotu krmného koeficientu a optimální využití krmiva s minimalizací zatížení chovného prostředí, nicméně se sníženou rychlostí růstu.

V rámci ověřování vlivu krmné strategie na kvalitu produkovaných ryb byl realizován test s využitím obou doporučených úrovní krmné dávky a vyhodnocením vlivu na výtěžnost a složení svaloviny chovaných ryb. Ověření proběhlo v experimentálním RAS oddělení rybářství a hydrobiologie s použitím komerční krmné směsi.

U dosažené výtěžnosti byly zjištěny minimální rozdíly mezi oběma úrovněmi krmení, a to bez statisticky významnosti. V obsahu sušiny a tuku ve svalovině ryb obou skupin pstruhů byly hodnoty velmi podobné a nedosáhly významných rozdílů. Rozdílná krmná dávka doporučená výrobcem neovlivnila v těchto parametrech složení svaloviny produkovaných ryb.

**Tab. 2:** Hodnocení výtěžnosti ryb a základní nutriční hodnoty rybí svaloviny

Krmná dávka	výtěžnost ± SD Vx	Sušina ± SD Vx	Tuk ± SD Vx
Růstová	84,41 ± 1,57	30,13±2,47	8,92 ± 2,09
	1,86	8,20	23,47
Snížená	84,96 ± 2,41	30,02 ± 4,82	8,29 ± 0,81
	2,863	16,07	9,83

### *Vliv podmínek chovu a použitého krmiva na nutriční hodnotu produkovaných ryb*

Pro hodnocení vlivu podmínek chovu a použitého krmiva bylo provedeno porovnání hodnot u ryb pocházejících z vybraných chovů v ČR. Analyzované ryby tržní hmotnosti v počtu vždy deset kusů pocházely z pěti lokalit využívající rozdílné technologie chovu. Jednalo se o rybníční chov, systémy průtočné i recirkulační, systémy využívající říční vodu nebo vodu podzemní. Ke krmení byla používána krmiva od dvou výrobců. Testovány byly ryby v hmotnostním rozpětí 310–370 g.

**Tab. 3:** Nutriční hodnoty masa pstruha duhového (procentický podíl čerstvé hmoty)

	Farma 1	Farma 2	Farma 3	Farma 4	Farma 5
Sušina ± SD	22,28 ± 0,94 <sup>a</sup>	24,16 ± 0,55 <sup>ab</sup>	23,40 ± 1,37 <sup>ab</sup>	25,31 ± 2,06 <sup>bc</sup>	27,30 ± 1,55 <sup>c</sup>
Vx	4,21	2,29	5,86	8,15	5,67
Bílkoviny ± SD	18,15 ± 0,44	18,09 ± 0,51	17,54 ± 0,66	17,55 ± 1,30	18,69 ± 1,18
Vx	2,42	2,81	3,78	7,41	6,31
Tuk ± SD	2,17 ± 0,46 <sup>a</sup>	3,76 ± 0,76 <sup>ab</sup>	5,01 ± 0,92 <sup>bc</sup>	6,5 ± 0,73 <sup>cd</sup>	7,34 ± 0,85 <sup>d</sup>
Vx	21,45	20,09	18,44	11,26	11,56
Popel ± SD	1,56 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,45 ± 0,24	1,11 ± 0,21 <sup>b</sup>	1,25 ± 0,15	1,62 ± 0,16 <sup>ac</sup>
Vx	5,55	16,89	18,89	11,64	10,09

**Tab. 4:** Obsah mastných kyselin (g/100 g) v mase ryb a v použitém krmivu

Mastné kyseliny	Farma 1		Farma 2		Farma 3		Farma 4		Farma 5	
	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.	Sval	Krm.
SFA	0,62	2,49	1,01	1,35	1,29	1,85	1,81	2,49	1,86	2,25
MUFA	1,03	1,85	2,05	7,66	3,49	9,84	4,91	10,54	4,07	7,30
PUFA	1,35 <sup>a</sup>	3,44	1,86 <sup>ab</sup>	3,75	2,88 <sup>ab</sup>	5,51	3,67 <sup>b</sup>	6,26	3,36 <sup>b</sup>	4,51
Σ n-3	0,87 <sup>a</sup>	2,28	1,11 <sup>ab</sup>	1,35	1,50 <sup>ab</sup>	2,07	1,94 <sup>b</sup>	2,65	1,93 <sup>b</sup>	1,98
Σ n-6	0,48	1,16	0,74	2,40	1,38	3,44	1,73	3,61	1,44	2,53
n-3/n-6	1,98 <sup>b</sup>	1,98	1,44 <sup>ab</sup>	0,56	1,10 <sup>a</sup>	0,60	1,12 <sup>a</sup>	0,73	1,40 <sup>ab</sup>	0,79

## Závěr

Krmné směsi využívané v intenzivním chovu ryb přímo ovlivňují kvalitu rybího masa, složení tuku, tedy i spektrum mastných kyselin a mohou ovlivnit i senzorické parametry. Byl zhodnocen vliv krmné strategie a technologie chovu na exteriérové parametry, výtěžnost produkovaných ryb, složení rybího masa a spektrum mastných kyselin. Na základě provedených analýz lze říci, že kromě obsahu tuku a zastoupení mastných kyselin nebyly zjištěny mezi pstruhy duhovými pocházejícími z českých chovů významné rozdíly v jejich nutriční hodnotě ani senzorických parametrech. U žádného z hodnocených chovů nebyl zjištěn negativní vliv systému chovu, zdroje vody nebo použitého krmiva. Potvrdila se skutečnost, že i při horším poměru n-3 FA má vyšší obsah tuku příznivý vliv na jejich přijímané množství. Vyšší podíl vnitřnostního komplexu negativně ovlivňuje výtěžnost chovaných ryb, nicméně nemusí to být nutně jen množstvím tuku uloženého v tělní dutině.

Volbou krmiva lze cíleně ovlivnit obsah tuku ve svalovině produkovaných ryb, spektrum a obsah mastných kyselin v mase pstruha duhového. Vyšší obsah tuku ve svalovině produkovaných ryb příznivě ovlivňuje množství žádoucích mastných kyselin přijímaných konzumentem, při jejich stejném zastoupení v krmivu.

Výše denní krmné dávky doporučená producenty krmiv ve dvou úrovních, tedy zohledňující optimální poměr mezi rychlostí růstu a konverzí krmiva a snížená krmná dávka pro dosažení optimální konverze krmiva, neovlivnila sledované parametry. Rozdílná intenzita krmení ovlivňuje rychlost růstu a hodnotu krmného koeficientu, ale výtěžnost a nutriční hodnotu produkované rybího masa nikoli.

Dosažené výsledky při hodnocení vlivu krmné strategie na nutriční hodnotu dokladují skutečnost, že s výjimkou obsahu tuku v ČR použitá krmiva významně neovlivňují kvalitu produkovaného masa lososovitých ryb. Výjimkou je spektrum a obsah mastných kyselin.

## Poděkování

Příspěvek vznikl za podpory projektu NAZV QK21010030 Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management lososovitých ryb a projektu MSMT CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000869 Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH.

## Literatura

- Bláha, M., 2014: Effects of different nutritional strategies for the production of salmonids in the conditions of intensive farming. In KOPP, R. 65 let výuky rybářství na Mendelově univerzitě v Brně. 1. vyd. Mendelova univerzita v Brně: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně, 2014, s. 246.
- Bláha, M., 2014: Vliv rozdílné strategie na produkční parametry v intenzivním chovu lososovitých ryb. Diplomová práce MENDELU, Brno 2015.
- Jarošová, A., (2013): Kvalita masa lososovitých ryb z recirkulačního systému dánského typu. In MAREŠ, J., LANG, Š. Zkušenosti s chovem ryb v recirkulačním systému dánského typu. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013, s. 68--78.
- Mareš, J. Lang, Š., Marešová, G. M. (eds.), 2016 Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péčí v recirkulačních systémech. Sborník příspěvků. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016, 104 s.
- Mareš, J., Novotný, L., Palíková, M., 2015: Akvakultura – základy výživy a krmení ryb. Skripta MENDELU, Brno 2015, 107 s.
- Mareš, J., Poštulková, E., Vlasák, J., Vliv krmné strategie a systému chovu na kvalitu masa lososovitých ryb. In Zkušenosti s chovem ryb, optimalizací prostředí a veterinární péčí v recirkulačním systému: Sborník příspěvků. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016, s. 47–51.
- Mareš, J., Vlasák, J. Vliv krmiva a systému chovu na kvalitu masa pstruha. Rybníkářství, 28, 2016 s. 6 a 8.
- Mareš, J., Poštulková, S., Kopp, R., Ovlivnění kvality masa lososovitých ryb volbou krmiva. Ověřená technologie R14/2017, MENDELU, 21 s.
- Ošanec, M, 2014: Zhodnocení vlivu použitého krmiva na produkční ukazatele v systému intenzivního chovu lososovitých ryb. Diplomová práce MENDELU, Brno 2014.
- Vlasák, J. 2015: Vliv podmínek na nutriční hodnotu lososovitých ryb z intenzivních systémů chovu. Diplomová práce MENDELU, Brno 2015.

---

## Poznámky

---

## Poznámky

---

Název: Sborník příspěvků z workshopu  
Globalizace, moderní technologie a změna klimatu jako  
zdroje nových možností a ohrožení pro chovný management  
lososovitých ryb

Editor: Petra Melezínková

Vydala: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Tisk: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně,  
Zemědělská 1, 613 00 Brno

Vydání: první, 2025

Náklad: 50 ks

Počet stran: 72

Za jazykovou a věcnou stránku příspěvků odpovídají jednotliví autoři.  
Editor provedl pouze nezbytné úpravy pro přípravu tisku.

ISBN 978-80-7701-070-2

