

mgr inż. Maciej Roman Rożyński
Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza
Zakład Akwakultury

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.:

Wpływ implantacji nadajników telemetrycznych i znieczulenia ogólnego na stan fizjologiczny i kondycyjny sandacza (*Sander lucioperca*) i okonia (*Perca fluviatilis*)

Promotor pracy: prof. dr hab. Zdzisław Zakęś

Promotor pomocniczy: dr hab. Rafał Kamiński

Ryby z rodziny okoniowatych zaliczane są do tzw. gatunków perspektywicznych dla światowej akwakultury. W Europie są to sandacz europejski (*Sander lucioperca*) i okoń euroazjatycki (*Perca fluviatilis*). Obecnie gatunki te są produkowane głównie w obiektach wykorzystujących technologię systemów recyrkulacyjnych (RAS) (ryby konsumpcyjne i/lub materiał zarybieniowy). Istotnym elementem prac hodowlanych prowadzonych w RAS są manipulacje rybami (np. obsadzanie basenów, sortowanie, znakowanie, rozród) mogące być dla ryb źródłem stresu i wpływać na ich stan zdrowotny. W akwakulturze w celu zniwelowania/ograniczenia wpływu stresu na ryby stosuje się m.in. anestetyki. W przypadku okoniowatych z powodzeniem używany jest etomidat (Propiscin, IRS Olsztyn). Uznawany jest on za preparat o niskiej toksyczności i nieznacznych skutkach ubocznych. Do tej pory nie poznano jednak, jak jego aplikowanie wpływa na stan fizjologiczny ryb, określane np. wskaźnikami hematologicznymi i biochemicznymi, będącymi m.in. dobrymi i wiarygodnymi markerami stresu. Prowadzenie racjonalnej gospodarki rybackiej w wodach otwartych determinowane jest m.in. zarybieniami. Podstawowym narzędziem umożliwiającym walidację efektów wprowadzenia ryb do wód otwartych jest ich znakowanie. Wśród obecnie stosowanych metod za najbardziej innowacyjną uznawana jest implantacja nadajników telemetrycznych (TT). Implantacja TT zazwyczaj jest zabiegiem chirurgicznym, wykonywanym po uprzednim uśpieniu ryb, potencjalnie mogącym wpływać na ich stan zdrowotny. Co prawda nadajniki TT stosowano już u ryb okoniowatych (sandacz), ale do tej pory nie poznano, jak tego typu zabiegi wpływają na ich stan zdrowotny i procesy fizjologiczne.

Za cele pracy doktorskiej przyjęto określenie wpływu: (I) indukcji

znieczulenia ogólnego za pomocą anestetyku Propiscin (etomidat) oraz (II) usypiania ryb i dootrzewnowej implantacji nadajników TT na stan zdrowotny, fizjologiczny i kondycję młodocianych osobników dwóch gatunków z rodziny okoniowatych, tj. sandacza i okonia.

Prace badawcze podzielono na dwa etapy (etap I i etap II). Etap I obejmował dwa doświadczenia, w których młodociane osobniki sandacza (doświadczenie I) i okonia (doświadczenie II) poddano działaniu środka znieczulającego (Propiscin; *Etomidatum* 0,02%). Zastosowano dwa stężenia anestetyku (1 i 2 ml l⁻¹ u obu gatunków) oraz dwa czasy kąpeli (2 i 10 min u sandacza oraz 3 i 10 min u okonia). Krew pobierano bezpośrednio po zakończeniu kąpeli ryb (0 h) oraz 24 godziny później (24 h). W etapie II badań również przeprowadzono dwa doświadczenia (sandacz (doświadczenie III) i okoń (doświadczenie IV)), w których młodocianym osobnikom tych gatunków implantowano dootrzewnowo nadajniki TT z anteną zewnętrzną. Rany poimplantacyjne zamykano szwami (wariant I) lub klejem tkankowym (wariant II). Po implantacji TT ryby podchowywano w RAS. Oceniono m.in. wzrost, kondycję ryb, a także stan szwów lub kleju oraz stan ran poimplantacyjnych. Dodatkowo, po zakończeniu każdego z doświadczeń, od ryb pobrano próbki krwi do badań hematologicznych i biochemicznych.

Po zakończeniu kąpeli sandacza w wodnym roztworze Propiscinu (0 h) stwierdzono istotne statystycznie różnice w przypadku czterech parametrów hematologicznych, tj. liczby krwinek białych (WBC), liczby krwinek czerwonych (RBC), stężenia hemoglobiny (HGB) i liczby hematokrytowej (HCT). Spośród parametrów czerwonych, istotne różnice dotyczyły średniej objętości krwinki czerwonej (MCV) i to wyłącznie w grupach, które przetrzymywano w roztworze anestetyku przez 10 min. U okonia, bezpośrednio po ekspozycji na anestetyk (0 h), istotne różnice odnotowano dla HCT i MCV. Po 24 h od zakończenia kąpeli wartości ww. parametrów hematologicznych powróciły do notowanych w kontrolnych grupach ryb. Kąpiele w roztworze anestetyku miały wpływ na wartości wskaźników biochemicznych. U sandacza (0 h) istotne różnice stwierdzono w przypadku 10 spośród 11 oznaczanych wskaźników biochemicznych. Wzrost stężenia białka całkowitego, globulin, amoniaku, wapnia i magnezu odnotowano we wszystkich grupach doświadczalnych. Podwyższone wartości glukozy i kreatyniny stwierdzono tylko u grup poddanych 10 min kąpielom. U okonia (0 h) podwyższone wartości stwierdzono w przypadku czterech parametrów biochemicznych, tj. glukozy, mleczanów, amoniaku i wapnia. U obu gatunków ryb poddanych badaniom po 24 h od zakończenia kąpeli wartości analizowanych parametrów

biochemicznych (poza magnezem u okonia) powróciły do odnotowanych w grupach kontrolnych.

W etapie II badań, u sandacza, któremu implantowano nadajniki TT istotne różnice w wartościach oznaczanych parametrów hematologicznych stwierdzono tylko u osobników w wariacie I (zaszywanie ran) (obniżenie MCV i średniego stężenia hemoglobiny (MCH)). Natomiast u okonia zmiany obserwowano tylko u osobników, u których rany poimplantacyjne zamykano klejem tkankowym (wariant II; obniżenie liczby trombocytów (PLT) i wartości MCV). U sandacza z wariantu I różnice stwierdzono w przypadku czterech spośród 11 oznaczanych wskaźników biochemicznych (amoniak, kreatynina, fosfataza zasadowa i magnez). Natomiast w wariacie II (zamykanie ran klejem) dotyczyło to tylko jednego parametru (fosfatazy zasadowej). Z kolei u okonia różnice wystąpiły tylko w dwóch parametrach w wariacie I (fosfataza zasadowa i magnez).

Zarówno u sandacza, jak i u okonia ubytki szwów (wariant I) obserwowano w czasie całego podchowu w RAS. Z kolei klej (wariant II) w większości przypadków uległ złuszczeniu już w pierwszym tygodniu po implantacji TT. U sandacza rany poimplantacyjne szybciej goiły się w grupie ryb, u których zamykano je klejem, a u okonia w grupie, w której używano szwów. U sandacza w wariacie I tylko jedna ryba straciła nadajnik TT (retencja 94%), natomiast w wariacie II nie odnotowano strat TT (retencja 100%). U okonia w wariacie I retencja nadajników TT wyniosła 66,7%, a w wariacie II 22,2%. Wśród analizowanych w etapie II badań wskaźników hodowlanych różnice odnotowano tylko u okonia (doświadczenie IV, wariant II). Po pierwszym tygodniu po implantacji nadajników TT stwierdzono obniżone wartości wskaźników wzrostu ryb. W kolejnych tygodniach jednak były one już zbliżone do wyników notowanych w grupie kontrolnej.

Podsumowując, u obu gatunków istotniejszy wpływ na stan fizjologiczny organizmu, tj. wskaźniki hematologiczne i biochemiczne miał czas przetrzymywania ryb w roztworze anestetyku, a mniejszy jego stężenie. Po 24 h większość wskaźników powróciła do wartości notowanych w grupach kontrolnych. Tym samym Propiscin można uznać za środek bezpieczny dla młodocianego sandacza i okonia, i rekomendować go do stosowania w czasie prac ichtiologicznych prowadzonych na tych taksonach. Obydwie metody zamykania ran po implantacji nadajników TT nie wpływały negatywnie na stan kondycyjny oraz procesy fizjologiczne sandacza i okonia. U sandacza, w przypadku zamykania ran klejem tkankowym odnotowano mniej istotny wpływ na wskaźniki hematologiczne i

biochemiczne. Metoda ta sprzyjała również szybszemu gojeniu się ran po implantacji TT. Można więc ją rekomendować w przypadku implantacji nadajników TT u tego gatunku. Z kolei u okonia, głównie z powodu znaczących strat nadajników TT (niskiej retencji), żadna z metod nie może być polecana. Wydaje się, że efektywniejsze mogłyby okazać się np. nadajniki TT z anteną wewnętrzną.

English summary

Fish from the percid family are considered to be promising species in global aquaculture. In Europe, species of interest include the European pikeperch (*Sander lucioperca*) and the Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Currently these species are produced mainly in facilities using recirculating aquaculture systems (RAS) (fish for human consumption and/or stocking material). Handling fish (e.g., stocking tanks, sorting, tagging, reproducing) is a significant element of rearing fish in RAS that can cause stress in fish and impact their health status. Applying anesthetics is one of the methods used in aquaculture to counteract or minimize the impact of stress on fish. Etomidate (Propiscin, IRS Olsztyn) is used successfully with percid fish as its toxicity is considered to be low and has few side effects. To date, it is unknown what impact this anesthetic has on fish physiological status determined, for example, by hematological and biochemical indicators that are, inter alia, good, reliable markers of stress. Stocking is one aspect of rational fisheries management in open waters, and tagging is one of the basic tools that permits verifying the effectiveness of releasing fish into open waters. Among the many methods currently applied, implanting telemetry transmitters (TTs) is considered to be the most innovative. TT implantation is a surgical procedure performed after fish have been anesthetized, which can potentially affect their health. While it is true that TTs have already been used in percid (pikeperch) fish, it has not yet been determined how these procedures affect the health and physiological processes of these fish.

The aims of the dissertation were to determine the impact on the physiological status and condition of juvenile specimens of two fish species from the family Percidae, i.e., pikeperch and perch, of (I) inducing general anesthesia with the anesthetic Propiscin (etomidate) and (II) placing the fish under general anesthesia and implanting TTs.

The research was divided into two stages (stage I and stage II). Stage I

included two experiments in which juvenile pikeperch (experiment I) and perch (experiment II) specimens were subjected to anesthesia (Propiscin; *Etomidatum* 0.02%). Two doses of anesthetic were applied (1 and 2 ml l⁻¹ in both species) during two immersion periods (2 and 10 min for pikeperch and 3 and 10 min for perch). Blood was drawn from the fish immediately following the conclusion of immersion (0 h) and 24 h later (24 h). In stage II of the study two experiments were conducted (experiment III (pikeperch) and experiment IV (perch)), in which TTs with internal antennae were implanted intraperitoneally in juvenile specimens of each species. The implantation incisions were closed with sutures (variant I) or tissue adhesive (variant II). After TT implantation the fish were reared in RAS. Among other indicators, fish growth and condition and the states of sutures or adhesive and incisions were assessed. Additionally, after the conclusion of each experiment, blood samples were drawn for hematological and biochemical tests.

After the conclusion of immersion of pikeperch in the aqueous Propiscin solution (0 h), statistically significant differences were confirmed for four hematological parameters, i.e., white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hemoglobin (HGB), and hematocrit (HCT). Among red blood cell parameters, significant differences were noted in mean corpuscular volume (MCV) and only in the groups that were immersed in the anesthetic solution for 10 min. Immediately following exposure to the anesthetic (0 h), significant differences in HCT and MCV were noted in perch, while 24 h following the conclusion of immersion the values of these hematological parameters returned to the values noted in the control group fish. Immersion in the anesthetic solution impacted the values of the biochemical parameters. Significant differences were confirmed in pikeperch (0 h) in 10 of the 11 biochemical indicators determined. Increased levels of total protein, globulin, ammonia, calcium, and magnesium were noted in all of the experimental groups. Elevated levels of glucose and creatinine were only confirmed in the group subjected to immersion for 10 min. In perch (0 h) elevated levels were confirmed in four of the biochemical parameters, i.e., glucose, lactate, ammonia, and calcium. With the exception of magnesium in perch, 24 h following immersion the values of the biochemical parameters in both species returned to the values noted in the control groups.

In stage II of the study, significant differences in the values of the hematological parameters determined were confirmed in pikeperch that were

implanted with TTs, but only in specimens from variant I (sutured incisions; lowered MCV and mean corpuscular hemoglobin values (MCH)). However, changes were only observed in perch specimens in which incisions were closed with tissue adhesive (variant II; lowered platelet (PLT) and MCV values)). Differences were confirmed in the pikeperch from variant I for four of the 11 biochemical indicators determined (ammonia, creatinine, alkaline phosphatase, and magnesium), while in variant II (incision closed with tissue adhesive) only the values of alkaline phosphatase were lower. In perch differences were noted only in two parameters in variant I (alkaline phosphatase and magnesium).

Suture loss (variant I) was noted in both pikeperch and perch throughout rearing in RAS, while tissue adhesive (variant II) was shed in most cases in the first week following TT implantation. Incisions in pikeperch healed faster in the group in which tissue adhesive was used, but in perch the sutured incisions healed faster. In the pikeperch from variant I only one specimen shed its TT (94% retention), while in variant II no TT shedding was noted (100% retention). TT retention in perch from variant I was 66.7%, and in variant II it was 22.2%. Among the rearing indices analyzed in stage II of the study, differences were only noted in perch (experiment IV, variant II). Reductions in indicators of fish growth rates were confirmed one week after TT implantation, but in subsequent weeks the values of these were similar to those noted in the control group.

In summation, the period during which both fish species were held in the anesthetic solution had the most significant impact on their physiological status, i.e., the hematological and biochemical indicators, while the dose had less of an impact. After 24 h most of the indicators returned to the values noted in the control groups. Therefore, Propiscin can be considered a safe agent for use with juvenile pikeperch and perch, and it is recommended for use in ichthyological work with these two species. Neither of the methods to close TT implantation incisions had a negative impact on the condition or physiological status of pikeperch or perch. In pikeperch, incisions closed with tissue adhesive had a less significant impact on hematological and biochemical indicators. This method also facilitated quicker healing of TT implantation incisions. Therefore, it can be recommended for implanting TTs in this species. However, because of significant TT shedding (low retention) in perch, neither of the methods can be recommended. It is possible that TTs with external antennae might be more effective.