

Stanisław Robak¹, Andrzej K. Siwicki¹, Barbara Kazuń¹, Krzysztof Kazuń¹,
Agnieszka Lepa¹, Patrycja Schulz², Edyta Kaczorek², Ewa Szczucińska²,
Elżbieta Terech-Majewska²

¹Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

²Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Monitorowanie i ocena stanu zdrowia węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* (L.) w Polsce

Ważną rolę w realizowanych przez Instytut Rybactwa Śródlądowego programach badawczych odgrywają zagadnienia związane z ochroną zasobów naturalnych, w tym monitorowanie i ochrona zdrowia ichtiofauny występującej w wodach powierzchniowych oraz będącej przedmiotem chowu i hodowli. Spośród ponad 80 gatunków ryb występujących w Polsce, ważnym z punktu widzenia gospodarki rybackiej, chowu i ochrony gatunkowej stał się w ostatnim dziesięcioleciu węgorz europejski. Odłowy węgorza szacowane są w Polsce na około 200 ton rocznie (gospodarcze, kłusownicze, wędkarskie), a zarybienia w ilości 2,6 mln sztuk narybku. Ranga węgorza w gospodarce rybackiej oraz znaczenie w środowisku wymagają stałego monitoringu stanu zdrowotnego i kondycyjnego tego cennego z wielu powodów gatunku. Badania w tym zakresie podjęto już w 2006 roku w ramach tematu statutowego Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie, a wyniki tych badań stanowiły podstawę do przygotowania zgodnie z wytycznymi Rozporządzenia 1100/2007 WE z dnia 17 września 2007 roku „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce” (PGZWP), którego założenia wdrażane są od 2010 r.

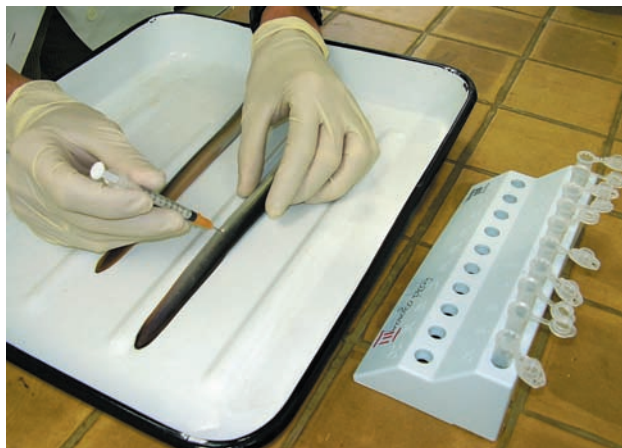
Monitoring efektów wdrażania PGZWP wykonywany jest przez zespół pracowników Instytutu Rybactwa Śródlądowego we współpracy z Morskim Instytutem Rybackim-Państwowym Instytutem Badawczym w Gdyni i wieloma instytucjami związanymi z nauką, gospodarką rybacką oraz ochroną środowiska. Badania finansowane są ze środków programu operacyjnego „Zrównoważony rozwój sektora rybołówstwa i nadbrzeżnych obszarów rybackich 2007-2013”, środka 3.2 „Ochrona i rozwój fauny i flory wodnej” objętego osią priorytetową 3. „Środki służące wspólnemu interesowi”, z pomocy pochodzącej z publicznych środków krajowych oraz Europejskiego Funduszu Rybackiego w ramach projektu pn: „**Monitoring efektów wdrażania „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce” realizowany w ramach ogólnopolskiego projektu odbudowy i ochrony węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* (L.)**” (umowa o dofinansowaniu z dnia 13.07.2011 r. nr 00002-61721-

OR1400003/10/11) oraz trzech operacji dotyczących zarybienia pn. „**Zarybianie wód dorzecza Odry i Wisły narybkiem węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* (L.) w celu odbudowy jego populacji**” (w latach 2011-2015).

Jednym z wielu badań monitoringowych realizowanych w ramach projektów było określanie stanu kondycyjnego i zdrowotnego węgorzy przeznaczonych do zarybień wód otwartych oraz bytujących w różnych akwenach na terenie Polski. Do realizacji zaplanowanych i ukierunkowanych badań zastosowano najnowsze metody badawcze, pozwalające na obiektywną ocenę stanu kondycyjnego i zdrowotnego węgorzy. W tym celu przygotowano procedury badawcze zgodne z wymogami dobrej praktyki klinicznej weterynaryjnej (GCVP), które wdrożono do badań klinicznych, anatomopatologicznych oraz parazytologicznych. Opisano i wdrożono podstawowe zasady odłowu ryb oraz ich transportu do laboratoriów przeprowadzających ukierunkowane badania. Opracowano tok postępowania diagnostycznego obejmującego badania hematologiczne, biochemiczne, mikrobiologiczne i immunologiczne zgodnie z wymogami dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP). Laboratoria wchodzące w skład zespołu ujednoliciły procedury badawcze i przygotowały schematy postępowania badawczego, które są stale audytowane zgodnie z wymogami światowych organizacji ochrony zdrowia zwierząt. W skład zespołu badawczego realizującego badania monitoringowe wchodzi pracownicy Zakładu Ichtologii IRS, Zakładu Patologii i Immunologii Ryb IRS, Katedry Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej oraz Katedry Epizootologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, Zakładu Chemii Żywności i Środowiska Morskiego Instytutu Rybackiego - Państwowego Instytutu Badawczego w Gdyni.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły węgorze przeznaczone do zarybienia tzw. wód otwartych, podchowywane w obiegach zamkniętych w kraju i za granicą oraz ryby odławiane



Fot. 1. Pobieranie krwi z żyły ogonowej do badań hematologicznych, biochemicznych i immunologicznych.

ze ściśle określonych akwenów Polski (rzek, jezior, zalewów i morza). Ryby z miejsc odłowu w liczbie minimum 10 sztuk (średnio 20 sztuk) transportowano do określonego najbliższego laboratorium zespołu badawczego, tj. Zakładu Patologii i Immunologii Ryb IRS w Żabieńcu lub Katedry Epizootiologii UWM w Olsztynie, w workach foliowych z tlenem wg norm dotyczących transportu ryb żywych (BN-73.9147-16 (Dz. Norm i Miar nr 12/1973, dokument 36).

Przed rozpoczęciem badań ryby wprowadzano w stan znieczulenia ogólnego doświadczalnym preparatem Propiscin (IRS Olsztyn) i pobierano krew igłą z żyły ogonowej do dalszych ukierunkowanych badań (fot. 1), a następnie uśmiercano przez przecięcie rdzenia kręgowego.

Badania kliniczne

Badania kliniczne obejmowały oględziny zewnętrzne mikro- i makroskopowe, w celu stwierdzenia ewentualnych zmian chorobowych na powłokach skórnych obejmujących głowę, tułów, ogon i zmian chorobowych na płetwach oraz listkach skrzelowych. Określano stan zdrowotny ryb na podstawie następujących zmian na ciele, wskazujących na ewentualnie toczący się proces chorobowy:

- zmiany zabarwienia skóry i skrzeli,
- przekrwienia i wybroczyny w skórze i skrzelach,
- przekrwienia jamy gębowej i obrzęk odbytu,
- nadmierna ilość śluzu na skórze i skrzelach,
- obrzęki, owrzodzenia i ubytki skóry,
- zmiany martwicze i cysty na skrzelach,
- wysadzenie gałek ocznych, zmętnienie i uszkodzenie rogówki,
- zmiany wytwórcze skóry i płetw oraz anomalie rozwojowe.

Badania anatomopatologiczne

Badania anatomopatologiczne miały na celu ocenę narządów wewnętrznych i przewodu pokarmowego pod



Fot. 2. Badania anatomopatologiczne.

kątem poszukiwania ewentualnie występujących zmian chorobowych (fot. 2). Przed otwarciem jamy ciała ryb dokonywano obserwacji wnętrza gałek ocznych. Poszukiwano następujących zmian dotyczących:

- tkanki mięśniowej (konsystencja, barwa, wybroczyny, wylewy krwawe),
- otrzewnej trzewnej i ściennej (wybroczyny, przekrwienia, zmiany włóknikowe),
- płynu wysiękowego (szczególnie jego ilość, barwa i konsystencja),
- przewodu pokarmowego (stany zapalne błony śluzowej, wybroczyny, przekrwienia oraz obecność pasożytów),
- wątroby i pęcherzyka żółciowego (barwa, konsystencja, przekrwienia, obrzęki, guzy),
- śledziony (obrzęki, guzki, zmiany zapalne),
- pęcherza pławnego (obrzęki, guzki, zmiany zapalne) oraz obecności pasożytów,
- nerki (przekrwienia, obrzęki, ogniska martwicze),
- serca (wybroczyny w ścianie serca, guzki),
- mózgu (wybroczyny, obrzęk).

Badania parazytologiczne i mikologiczne

Bezpośrednio po uśmierceniu ryb skalpelem pobierano zeszkobinę ze skóry, płetw i skrzeli w celu dokonania obserwacji mikroskopowych. W świeżych preparatach poszukiwano pierwotniaków pasożytniczych, płazińców oraz różnych form grzybów. Po wykonaniu sekcji ryb poszukiwano również pasożytów w przewodzie pokarmowym oraz w jamie ciała i pęcherzu pławnym. Określano liczebność pasożytów, ze szczególnym naciskiem na nicienie *Anguillicoloides crassus*. W tym wypadku znalezione pasożyty liczono i mierzono oraz określano intensywność i ekstensywność inwazji (fot. 3).

Badania wirusologiczne

Do badań wirusologicznych pobierano próbki narządów (skrzela, nerki, śledziona, wątroba, mózg) i dia-



Fot. 3. Inwazja nicienia *Anguillicoloides crassus* w pęcherzu pławnym.

gnozowano w kierunku poszczególnych wirusów za pomocą techniki PCR. Badania prowadzono w celu stwierdzenia obecności wirusów patogennych dla węgorza, występowania nosicielstwa wirusów patogennych dla innych gatunków ryb hodowlanych oraz porównania uzyskanych wyników z badaniami prowadzonymi w innych krajach (Chang i in. 2002, Jakob i in. 2009, Williams i in. 1999).

Badanie w celu izolacji wirusa EVEX (Eel Virus European X):

- izolacja RNA przy użyciu zestawu RNeasy Kit (Qiagen) lub Total RNA (A&A Biotechnology) zgodnie z wytycznymi producenta,
- reakcja odwrotnej transkrypcji przy użyciu zestawu TaqMan Reverse Transcriptase Reagent Kit (Life Technologies) zgodnie z wytycznymi producenta w termocyklerze Eppendorf realplex,
- real-time PCR przy użyciu zestawu Sybr Green Real-Time PCR Mix (Life Technologies) zgodnie z wytycznymi producenta w termocyklerze Eppendorf realplex według metody opisanej przez van Beurden i in. (2011).

Systematyczne badania mające na celu stwierdzenie lub wykluczenie obecności tego wirusa są wykonywane standardowo w większości krajów europejskich w monitoringu przy ocenie stanu zdrowotnego węgorza, w ramach realizacji narodowych planów gospodarowania zasobami węgorza (EMP).

Badanie w kierunku izolacji wirusa AngHV-1 (Anguillid herpesvirus 1):

- izolacja DNA za pomocą zestawu QIAamp DNA mini Kit (Qiagen) lub Genomic Mini (A&A Biotechnology) zgodnie z wytycznymi producenta,
- PCR metodą opisaną przez Rijsewijk i in. (2005) w termocyklerze Eppendorf realplex,
- rozdział produktów reakcji za pomocą elektroforezy (BIO-RAD) w 1,5% żelu agarozowym i odczyt w analizatorze żelu (BIO-RAD).

Badania w kierunku izolacji wirusów SVC, VHS, IHN, oraz IPN:

- izolacja RNA przy użyciu zestawu RNeasy Kit (Qiagen) lub Total RNA (A&A Biotechnology) zgodnie z wytycznymi producenta,
- reakcja odwrotnej transkrypcji przy użyciu zestawu TaqMan Reverse Transcriptase Reagent Kit (Life Technologies) zgodnie z wytycznymi producenta w termocyklerze Eppendorf realplex,
- PCR według metody opisanej przez Stone i in. (2003) dla wirusa SVCV, Lopez-Jimena i in. (2010) dla wirusa IPNV, Snow i in. (2004) dla wirusa VHSV, Emmenegger i in. (2000) dla wirusa IHNV oraz multiplex PCR (Williams i in. 1999) dla wirusów VHS, IPN, IHN. Wszystkie reakcje PCR wykonywane w termocyklerze Eppendorf realplex,
- rozdział produktów reakcji za pomocą elektroforezy (BIO-RAD) w 1,5% żelu agarozowym i odczyt w analizatorze żelu (BIO-RAD).

Wirusy VHS, IHN, SVC oraz IPN nie są patogenne dla węgorza, ale badanie wydaje się istotne w celu oceny sytuacji epizootycznej i wykluczenia możliwości przenoszenia wirusów przez ten gatunek ryb wędrownych – dotychczas tego typu badań nie prowadzono na świecie w tak szerokim zakresie.

Badania bakteriologiczne

Do badań bakteriologicznych pobierano aseptycznie próbki narządów (nerka, śledziona, mózg) oraz wymazy ze skóry i skrzelii w celu izolacji i identyfikacji patogennych bakterii dla węgorza. Pobrane próbki oraz wymazy posiewano na podłoża i inkubowano w odpowiedniej dla danego patogenu temperaturze (15-25°C). Bakterie wyizolowane od ryb identyfikowano na podstawie właściwości hodowlanych i biochemicznych, z wykorzystaniem odpowiednich selektywnych i wybiórczych podłoży mikrobiologicznych oraz testów API 20E, API 20NE, API STREP (bio Merieux).

Badania hematologiczne i biochemiczne

Po uzyskaniu pełnej krwi z żyły ogonowej wykonywano bezpośrednio badania określające liczbę erytrocytów metodą spektrofotometryczną, wartość hematokrytu oraz poziom hemoglobiny, przy zastosowaniu rutynowych metod stosowanych w hematologii ryb przez Zakład Patologii i Immunologii Ryb IRS. Z uzyskanych wartości określano średnią objętość krwinki, średnią zawartość hemoglobiny w krwince oraz średni odsetek hemoglobiny w krwince.

Badania biochemiczne obejmowały określenie poziomów białka całkowitego, glukozy i kortyzolu metodą spektrofotometryczną przy użyciu gotowych zestawów firmy Sigma.

Badania immunologiczne

Przed uśmierceniem ryb pobierano krew w celu uzyskania surowicy przez odwirowanie jej przez 20 min przy 2000 x g. Surowicę przechowywano do badań immunologicznych w temperaturze -80°C. Badania immunologiczne miały na celu określenie potencjału nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych oraz odporności przeciwwzakaźnej. W surowicy określano:

- aktywność lizozymu przy zastosowaniu metody turbidymetrycznej opisanej przez Siwickiego i wsp. (1993) oraz dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011),
- aktywność ceruloplazminy przy zastosowaniu metody spektrofotometrycznej opisanej przez Siwickiego i Studnicką (1986) oraz dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011),
- poziom białka całkowitego metodą spektrofotometryczną przy użyciu zestawu firmy Sigma (Sigma Diagnostic Kits) opisaną dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011),
- poziom gamma-globulin (Ig) metodą spektrofotometryczną opisaną przez Siwickiego i wsp. (1993) oraz dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011),
- aktywność metaboliczną (RBA) i bójczą (PKA) fagocytów metodą opisaną przez Siwickiego i wsp. (1993) oraz dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011),
- aktywność proliferacyjną limfocytów stymulowanych mitogenami ConA i LPS przy użyciu metody opisanej przez Siwickiego i wsp. (1993) oraz dla węgorza przez Siwickiego i Robaka (2011).

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej testem ANOVA oraz określano średnie wartości i odchylenie standardowe dla każdej badanej grupy ryb.

Wyniki badań i dyskusja

Analiza stanu kondycyjnego i zdrowotnego materiału zarybieniowego

Badania kliniczne i anatomopatologiczne jednoznacznie wykazały, że węgorze pochodzące z krajowych oraz zagranicznych ośrodków podchowowych i przeznaczone do zarybienia wód otwartych nie wykazywały zmian wskazujących na toczący się ostry lub przewlekły proces chorobowy (wyniki badań archiwizowane w IRS).

Każdorazowo wykonane indywidualne badania bakteriologiczne potwierdzały brak obecności patogennych bakterii zagrażających zdrowiu ryb (Siwicki i in. 2009a, Siwicki i in. 2010). Natomiast dość częstym zjawiskiem była izolacja ze skóry, skrzel i narządów wewnętrznych warunkowo chorobotwórczych bakterii:

- skrzel: *Chryseomonas luteola*, *Citrobacter freundii*, *Flavobacterium ottyi*habitant
- nerki: *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Drobnoustroje te stanowią naturalną mikroflorę środowiska wodnego i izolowane są od ryb, a w sprzyjających warunkach mogą wywoływać chorobę.

Równocześnie wykonywane badania wirusologiczne wykazały, że od badanych ryb nie izolowano wirusów EVEX i AngHV-1 oraz nie stwierdzono obecności wirusów niepatogennych dla tego gatunku jak VHSV, IHNV, IPNV oraz SVCV. Analizy uzyskanych wyników badań hematologicznych, biochemicznych i immunologicznych wskazywały na dobry stan kondycyjny i wysoki potencjał odporności przeciwwzakaźnej u badanego węgorza przeznaczonego do zarybienia wód otwartych (Siwicki i in. 2009c, Siwicki i in. 2011a, Siwicki i in. 2011b). Szczegółowy zakres badań oraz uzyskane wyniki są archiwizowane w IRS zgodnie z wymogami GLP oraz GCVP.

Analiza stanu zdrowotnego węgorzy bytujących w wodach otwartych

Badania monitoringowe, określające stan kondycyjny i zdrowotny węgorzy z różnych akwenów, prowadzone były systematycznie wg schematu przygotowanego dla potrzeb projektu. Ryby dla celów monitoringowych pozyskiwane były zgodnie z wymogami dotyczącymi odłowu i transportu ryb. Do miejsca badań ryby transportowano w workach z tlenem zgodnie z przyjętymi procedurami.

U 20% ryb z każdego akwenu stwierdzano otarcia, przebarwienia, drobne ubytki na skórze oraz wybroczyny na płetwach ogonowej i brzusznej. Natomiast jedynie u pojedynczych sztuk z niektórych akwenów stwierdzano zmiany na skórze lub płetwach, wskazujące na toczący się proces chorobowy (fot. 4). W tych przypadkach izolowano głównie od badanych ryb bakterie *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* oraz *Flavobacterium psychrophilum*.



Fot. 4. Zmiany chorobowe na skórze – owrzodzenia.

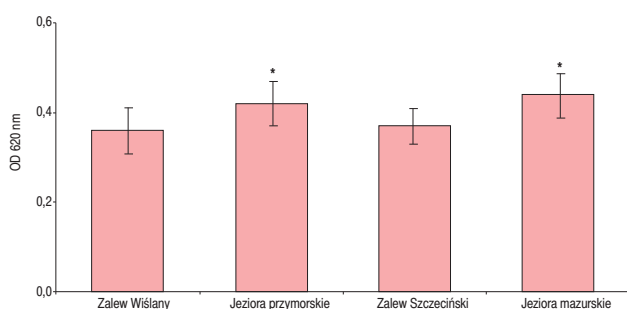
W ukierunkowanych badaniach wirusologicznych nie stwierdzono u badanych ryb obecności wirusa EVEX patogennego dla węgorza oraz nie izolowano wirusów VHS, IHN, IPN i SVC. Jedynie w jednym przypadku stwierdzono u węgorza pochodzącego z Zalewu Szczecińskiego obecność wirusa AngHV-1 (Siwicki i in. 2009b).

Ukierunkowane badania immunologiczne wykazały, że istnieje nieznaczne zróżnicowanie w oznaczanych parametrach określających nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne między rybami pochodzącymi z jezior przymorskich i zlewisk rzek. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że badane grupy węgorzy posiadają wysoki potencjał odpornościowy (Siwicki i in. 2009c, Siwicki i in. 2011a, Siwicki i in. 2011b).

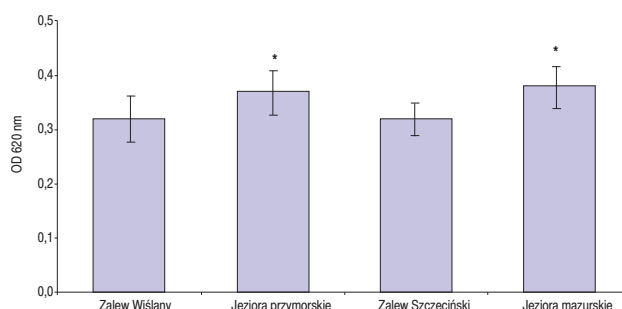
Natomiast stwierdzono znaczne zróżnicowanie w ww. parametrach u węgorzy pochodzących Zalewu Szczecińskiego oraz Zalewu Wiślanego w porównaniu z rybami odłowionymi z jezior przymorskich i jezior mazurskich. Wyniki badań immunologicznych węgorzy z różnych akwenów przedstawiono na rysunkach 1-8. Stwierdzono u węgorzy pochodzących z Zalewu Szczecińskiego i Zalewu Wiślanego statystycznie istotnie ($P < 0,05$) niższe poziomy następujących parametrów immunologicznych: aktywności metabolicznej i bójczej fagocytów krwi, odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów T i B, aktywności lizozymu w surowicy, poziomu białka całkowitego oraz poziomu gamma-globulin (Ig). Natomiast stwierdzono statystycznie

istotny wzrost aktywności ceruloplazminy, białka produkowanego przez hepatocyty, odpowiedzialnego za reakcje adaptacyjne ostrej fazy w organizmie ryb. Uzyskane wyniki badań sugerują, że zmiana środowiska wodnego mogła spowodować u węgorza aktywację procesów adaptacyjnych na poziomie neurohormonalnym, a w konsekwencji indukować u węgorzy immunosupresję na poziomie komórkowym i humoralnym. Dalsze ukierunkowane badania są konieczne w celu obiektywnej oceny zjawisk immunologicznych, zachodzących u węgorza w różnych środowiskach.

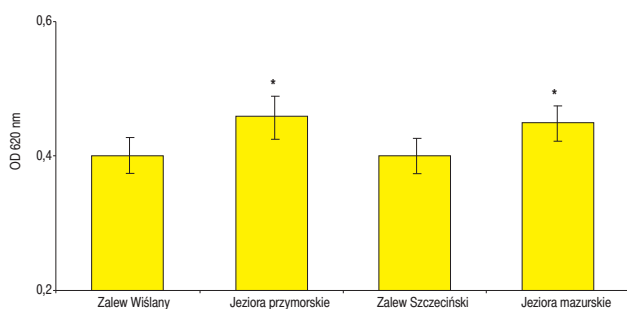
Istotnym elementem badań jest stwierdzenie, że u monitorowanych ryb z różnych akwenów obserwuje się w ostatnich latach niepokojący wzrost występowania nicienia *Anguillicoloides crassus* (fot. 3). Jedynie u ryb pochodzących z Gospodarstwa Rybackiego PZW w Rucianem-Nidzie nie stwierdzono licznej obecności tych pasożytów w pęcherzu pławnym. Analiza uzyskanych indywidualnych wyników badań pozwoliła na stwierdzenie, że ekstenywność i intensywność inwazji nicienia *Anguillicoloides crassus* jest bardzo wysoka, sięgająca od 50 do 100% badanej populacji ryb (Popielarczyk i in. 2012). Analiza porównawcza wykazała, że stopień inwazji tego pasożyta ma istotny wpływ na aktywność nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych warunkujących odporność przeciwważną oraz na poziom białka całkowitego i glukozy, podstawowych parametrów oce-



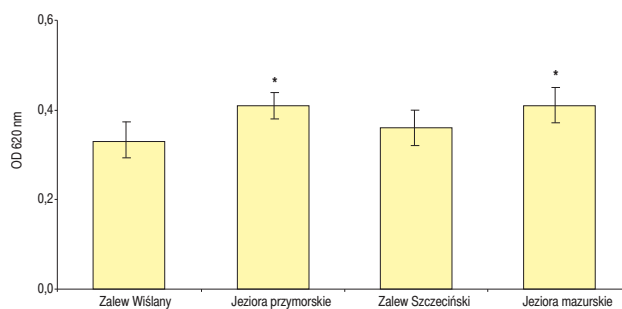
Rys. 1. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: aktywność metaboliczna fagocytów (RBA) (średnia \pm SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



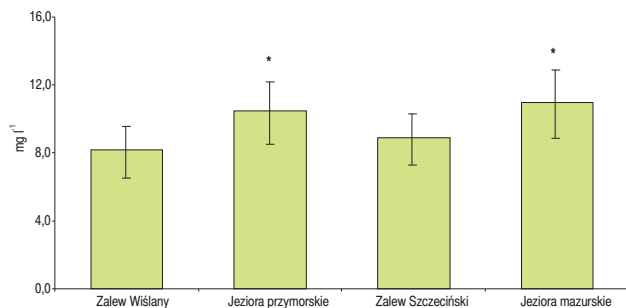
Rys. 2. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: aktywność bójcza fagocytów (PKA) (średnia \pm SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



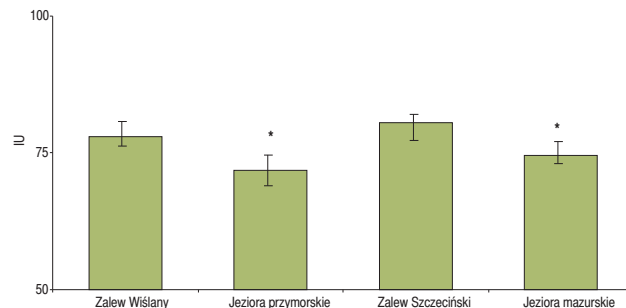
Rys. 3. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: odpowiedź proliferacyjna limfocytów na mitogen ConA (średnia \pm SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



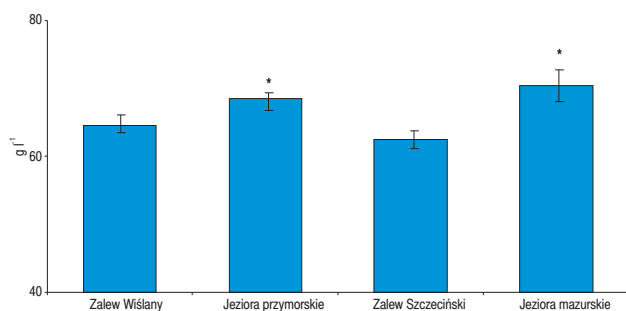
Rys. 4. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: odpowiedź proliferacyjna limfocytów na mitogen LPS (średnia \pm SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



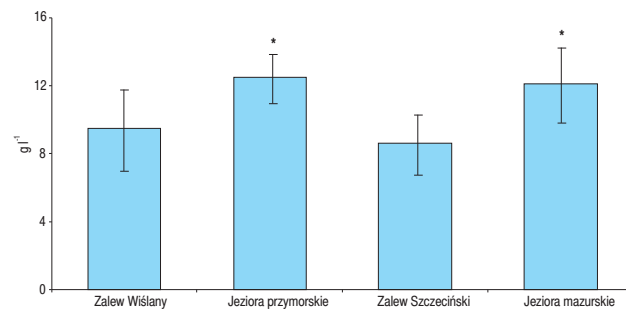
Rys. 5. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: aktywność lizozymu w surowicy (średnia ± SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



Rys. 6. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: aktywność ceruloplazminy w surowicy (średnia ± SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



Rys. 7. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: poziom białka całkowitego w surowicy (średnia ± SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).



Rys. 8. Kształtowanie się nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u węgorza zasiedlającego różne środowiska: poziom gamma-globulin w surowicy (średnia ± SD; *statystycznie istotne różnice $P < 0,05$).

niających stan kondycyjny ryb (Terech-Majewska i in. 2013).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że w Polsce prowadzone są systematyczne badania monitoringowe w zakresie oceny stanu kondycyjnego i zdrowotnego węgorza, zarówno przeznaczonych na zarybienie, jak i zasiedlającego różne akweny. Tak ukierunkowane badania dotychczas nie były prowadzone w Polsce, a uzyskane wyniki pozwalają na obiektywną ocenę aktualnego stanu kondycyjnego i zdrowotnego tego gatunku pochodzącego z jezior, rzek i zalewów przymorskich oraz migrującego do naszych rzek z Morza Bałtyckiego. Zbiór uzyskanych wyników badań stanowi cenne źródło informacji nie tylko w aspekcie sanitarno-epizootycznym, ale również ekologicznym. Istotnym elementem jest systematyczność prowadzonych badań w tak szerokim zakresie. Zastosowane procedury badawcze oraz metody diagnostyczne są porównywalne i wykonywane zgodnie z międzynarodowymi standardami. Ma to istotne znaczenie dla analizy porównawczej uzyskanych wyników badań wykonanych w innych krajach (Chang i in. 2002, Jakob i in. 2009). W 2014 roku wykonano dodatkowe badania wirusologiczne metodami biologicznymi, które były potwierdzane metodami PCR oraz real-time PCR. Celem tych badań była ocena zagrożenia wynikającego ze wzrostu izolacji wirusa AngHV-1 w populacji węgorza obserwowanego w niektórych krajach Unii Europejskiej. Ustalono, że szczególnie

nacisk zostanie położony na ocenę zagrożenia zakażenia tym wirusem ryb migrujących do polskiej strefy z innych krajów oraz nosicielstwa u węgorzy importowanych do Polski w celach zarybieniowych.

Uzupełnieniem badań zdrowotnych są wykonywane przez Zakład Chemii Żywności i Środowiska Morskiego Instytutu Rybackiego-Państwowego Instytutu Badawczego w Gdyni oznaczenia składu ciała, w tym zawartości metali ciężkich, dioksyn, polichlorobifenili i innych szkodliwych substancji (Polok-Juszczak i Robak 2014, Szlinder-Richert 2014)

Wyniki badań stanu zdrowotnego narybku węgorza wykorzystywanego do zarybień oraz dorosłych ryb bytujących w śródlądowych i morskich wodach Polski prezentowane są na konferencjach w Polsce i za granicą. Na ich podstawie sporządzane są coroczne raporty na posiedzenie Węgorzowej Grupy Roboczej EIFAAC/ ICES (Nermer i Robak 2012, 2013, 2014). W oparciu o wyniki kompleksowych badań węgorza wykonywanych w Polsce, w porozumieniu z Ministerstwem Rolnictwa i Rozwoju Wsi, co trzy lata sporządzany jest i przesyłany do Komisji Rybołówstwa Parlamentu Europejskiego raport dotyczący ewaluacji „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce”, w którym istotnym rozdziałem jest ocena stanu zdrowotnego węgorzy.

Badania zrealizowano w ramach projektu pn: „Monitoring efektów wdrażania „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce” realizowany w ramach ogólnoświato-

wego projektu odbudowy i ochrony węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* (L.)" (umowa o dofinansowaniu z dnia 13.07.2011 r. nr 00002-61721-OR1400003/10/11) oraz trzech operacji dotyczących zarybiania wód dorzecza Odry i Wisły pn. „Zarybianie wód dorzecza Odry i Wisły narybkiem węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* (L.) w celu odbudowy jego populacji” (w latach 2011-2015) oraz tematów statutowych realizowanych w Zakładzie Patologii i Immunologii Ryb oraz Zakładzie Ichtiologii Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie.

Piśmiennictwo

- van Beurden S.J., Voorbergen-Laarman M.A., Roozenburg I., Boerlage A.S., Haenen O.L., Engelsma M.Y. 2011 – Development and validation of a two-step real-time RT-PCR for the detection of eel virus European X in European eel, *Anguilla anguilla* – J. Virol. Methods 171: 352-359.
- Chang P.H., Pan Y.H., Wu C.M., Kuo S.T., Chung H.Y. 2002 – Isolation and molecular characterization of herpes-virus from cultured European eels *Anguilla anguilla* in Taiwan – Dis. Aquat. Org. 50: 111-118.
- Emmenegger E.J., Meyers T.R., Burton T.O., Kurath G. 2000 – Genetic diversity and epidemiology of infectious hematopoietic necrosis virus in Alaska – Dis. Aquat. Org. 40: 163-176.
- Jakob E., Neuhaus H., Steinhagen D., Luckhardt B., Hanel R. 2009 – Monitoring of Herpesvirus anguillae (HVA) infections in European eel, *Anguilla anguilla* (L.), in northern Germany – J. Fish Dis. 32: 557-561.
- Lopez-Jimena B., Garcia-Rosado E., Infante C., Cano I., Manchado M., Castro D., Borrego J.J., Alonso M.C. 2010 – Detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) from asymptomatic redband sea-bream, *Pagrus auriga* Valenciennes, and common seabream, *Pagrus pagrus* (L.), using a non-destructive procedure – J. Fish Dis. 33: 311-319.
- Nermer T., Robak S. 2012 – Report on the eel stock and fishery in: Poland 2011/12 EIFAAC/ICES WGEEL, Kopenhaga.
- Nermer T., Robak S. 2012 – Report on the eel stock and fishery in: Poland 2012/13 EIFAAC/ICES WGEEL, Kopenhaga.
- Nermer T., Robak S. 2012 – Report on the eel stock and fishery in: Poland 2013/14 EIFAAC/ICES WGEEL, Rzym.
- Polok-Juszczak L., Robak S. 2014 -Merkury Toxicity and the protective role ofelenium in eel, *Anguilla anguilla*. Environmental Science and Pollution Research, doi 10.1007/s11356-014-3382.
- Plan gospodarowania zasobami węgorza europejskiego. 2009; Olsztyn, Gdynia, Warszawa.
- Popielarczyk R., Robak S., Siwicki A.K. 2012 – Infection of European eel, *Anguilla anguilla* (L.), with the nematode *Anguillicoloides crassus* (Kuwahara, Niimi et Itagaki, 1974) in Polish waters – Pol. J. Vet. Sci. 15: 253-257.
- Report on the implementation of the Polish Eel Management Plan in 2009-2011, 2012; S. Robak (editor), IRS Olsztyn: 1-47.
- Rijsewijk F., Pritz-Verschuren S., Kerkhoff S., Botter A., Willemsen M., van Nieuwstadt T., Haenen O. 2005 – Development of a polymerase chain reaction for the detection of Anguillid herpesvirus DNA in eels based on the herpesvirus DNA polymerase gene – J. Virol. Methods 124: 87-94.
- Robak S. 2012 – Monitoring naukowy efektów wdrażania „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce” – Zrównoważone korzystanie z zasobów rybactwa na tle ich stanu w 2011 roku. Wyd. IRS, Olsztyn: 117-135.
- Rozporządzenie Rady (WE) NR 1100/2007 z dnia 18 września 2007 r. ustanawiające środki służące odbudowie zasobów węgorza europejskiego.
- Siwicki A.K., Robak S. 2011 – The innate immunity of European eel (*Anguilla anguilla*) growing in natural condition and intensive system of rearing – Centr.Eur. J. Immuno. 36 : 130-134.
- Siwicki A.K., Anderson D.P., Waluga J. 1993 – Fish Diseases Diagnosis and Preventions Methods – FAO-Project GCP/INT/526/JPN, Wyd. IRS Olsztyn, pp 181.
- Siwicki A.K., Studnicka M. 1986 – Ceruloplasmin activity in carp (*Cyprinus carpio*) – Bamidgeh 38: 126-129.
- Siwicki A.K., Kazuń B., Robak S., Terech-Majewska E., Kazuń K., Głąbski E. 2009a – Choroby bakteryjne stanowiące największe zagrożenie w podchowach kontrolowanych węgorza – Komun. Ryb. 2: 20-22.
- Siwicki A.K., Robak S., Kazuń K., Kazuń B., Głąbski E., Lepa A., Terech-Majewska E. 2009b – Choroby wirusowe powodujące największe straty w warunkach naturalnych oraz podchowach kontrolowanych węgorza – Komun. Ryb. 3: 25-27.
- Siwicki A.K., Robak S., Kazuń K., Lepa A., Kazuń B., Głąbski E., Terech-Majewska E., Fuller J.C., Nissan S. 2009c – Dietary intake of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) by European eel (*Anguilla anguilla*) affects the nonspecific immunity in intensive rearing – Diseases of Fish and Shellfish, 14th Congress EAFP Prague, P-105, 293.
- Siwicki A.K., Robak S., Kazuń K., Kazuń B., Głąbski E., Lepa A., Terech-Majewska E. 2010 – Choroby wirusowe i bakteryjne występujące w warunkach naturalnych oraz podchowach kontrolowanych węgorza – Choroby ryb podlegające obowiązkowi zwalczania oraz inne choroby zagrażające hodowli – diagnostyka, profilaktyka, terapia. Wyd. IRS, Olsztyn: 167-176.
- Siwicki A.K., Robak S., Terech-Majewska E., Głąbski E., Kazuń K., Kazuń B., Lepa A. 2011a – Dietary administration of 1,3-1,6-b-D-Glucans (Leiber-Beta S) enhanced the innate immune responses and disease resistance in intensive rearing of the European eel (*Anguilla anguilla*) – Diseases of Fish and Shellfish: 15th International Conference of European Associated Fish Pathologists Split, Croatia, P-094, 267.
- Siwicki A.K., Robak S., Głąbski E., Kazuń K., Kazuń B., Lepa A. 2011b – The innate immune defence in european eel (*Anguilla anguilla*) grown in natural condition and in an intensive system of culture – Diseases of Fish and Shellfish: 15th International Conference of European Associated Fish Pathologists Split, Croatia, P-294, 469.
- Snow M., Bain N., Black J., Taupin V., Cunningham C.O., King J.A., Skall H.F., Raynard R.S. 2004 – Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) – Dis. Aquat. Org. 61: 11–21.
- Stone D.M., Ahne W., Denham K.D., Dixon P.F., Liu C.T.Y., Sheppard A.M., Taylor G.R., Way K. 2003 – Nucleotide sequence analysis of the glycoprotein gene of putative spring viraemia of carp virus and pike fry rhabdovirus isolates reveals four genogroups – Dis. Aquat. Org. 53: 203-210.
- Szlinder-Richert J., Ruczyńska W., Nermer T., Usydus Z., Robak S. 2014 – The occurrence of organic contaminants in European eel (*Anguilla anguilla*) in Poland: An environmental quality assessment – Chemosphere. 114: 282-290.
- Szlinder-Richert J., Nermer T., Szatkowska U. 2014 – PAH metabolites in European eels (*Anguilla anguilla*) as indicators of PAH exposure: Different methodological approaches; Science of the Total Environment, 496: 84-91.
- Terech-Majewska E., Robak S., Szczucińska E., Zembrzuska M., Siwicki A.K. 2013 – The cellular immunity defence of european eel (*Anguilla anguilla*) during nematode *Anguillicoloides crassus* invasion – 16th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Tampere Finland, EAFP Bulletin, P-158, 404.
- Williams K., Blake S., Sweeney A., Singer J.T., Nicholson B.L. 1999 – Multiplex reverse transcriptase PCR assay for simultaneous detection of three fish viruses – J. Clin. Microbiol. 37: 4139-4141.

Przyjęto po recenzji 2.12.2014 r.

Stanisław Robak, Andrzej K. Siwicki, Barbara Kazuń, Krzysztof Kazuń, Agnieszka Lepa, Patrycja Schulz, Edyta Kaczorek, Ewa Szczucińska, Elżbieta Terech-Majewska

ABSTRACT. The significance of eel to fisheries management and the environment necessitates the continuous monitoring of the health and condition of this valuable species. One of the many monitoring studies realized within the project was to determine the condition and health status of eel used for stocking open waters and those inhabiting various basins in Poland. The newest research and diagnostic methods were used to conduct these targeted studies. The studies were performed by a research team comprised of staff from the Department of Ichthyology at IFI, the Department of Fish Pathology and Immunology at IFI, the Department of Microbiology and Clinical Immunology and the Department of Epizootiology in the Faculty of Veterinary Medicine at UW-M in Olsztyn, and the Department of *Food and Environmental Chemistry at the National Marine Fisheries Research Institute* in Gdynia. Full clinical, anatomic pathological, parasitological, mycological, virological, bacteriological, biochemical, and immunological studies were performed. The analysis of the condition and health status of stocking material indicated that eel originating from Polish and foreign hatcheries for stocking open waters did not resent and pathology that would indicate and acute or chronic diseases. Neither the EVEX or the AngHV-1 viruses were isolated from the fish analyzed, nor was the presence of the VHS, IHN, IPN, or SVC viruses confirmed. The analysis of the condition and health of eel inhabiting open waters indicated that approximately 20% of the fish from each basin exhibited abrasions, discoloration, small skin lesions, and bruising on the caudal and pelvic fins. Only in single specimens from some basins was pathology indicative of disease confirmed. The bacteria *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria* and *Flavobacterium psychrophilum* were isolated from them. Targeted virological studies of one eel specimens from the Szczecin Lagoon confirmed the occurrence of the AngHV-1 virus. An important element of the research was that among the fish monitored from various basins a systematic increase in the prevalence of the nematode *Anguillicoloides crassus* was noted at an intensity and extensiveness of invasion that ranged from 50 to 100% of the studied fish population

Key words: European eel, Poland, monitoring health and condition, microbiological study, immunological study