



Zdzisław Zakęś¹, Maciej Rożyński¹, Marek Hopko¹, Mirosław Szczepkowski²,
Krzysztof Wunderlich²

¹Zakład Akwakultury, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

²Zakład Hodowli Ryb Jesiotrowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

Znakowanie tarlaków sandacza (*Sander lucioperca* (L.)) implantami elastomerowymi

Wstęp

Metodę znakowania ryb implantami elastomerowymi (VIE; z ang. *Visible Implant Elastomer*) zaczęto stosować w latach 90. XX wieku (np. Buckley i in. 1994, Bonneau i in. 1995). Początkowo używano jej głównie do znakowania ryb łososiowatych, a z czasem VIE znalazły zastosowanie u innych gatunków ryb i organizmów wodnych, np. skorupiaków i płazów (www.nmt.us). Metoda ta została opracowana, jako alternatywna względem tradycyjnych technik zewnętrznego znakowania ryb, w tym obcinania płetw, które to mogą mieć niekorzystny wpływ na wzrost, przeżywalność i behavior znakowanych organizmów (np. Berg i Berg 1990). Chociaż znaczki elastomerowe implantowane są pod skórę (okolice gałki ocznej, płetw, wieczka skrzelowego) to jednak metodę tę zalicza się do tzw. znakowania zewnętrznego (Skalski in. 2009). Są one bowiem widoczne na ciele ryby, a w przypadku VIE, zawierających substancje fluorescencyjne, ich identyfikację ułatwia stosowanie latarki UV (Fitz-Gerald i in. 2004, Zakęś i in. 2015b). Metoda ta ma szereg zalet, a do istotniejszych należy zaliczyć: prostą identyfikację VIE, niewielki koszt znakowania, możliwość wykorzystania u małych ryb, a także szybkość jej stosowania. Co istotne, samo znakowanie VIE i związane z nim manipulacje mają niewielki lub żaden wpływ na znakowane ryby (Astorga i in. 2005, Simon i Dörner 2011, Zakęś i in. 2015a). Jest to jednak metoda krótkookresowa i tę cechę należy zaliczyć do jej wad. Niektóre badania wskazują, że czytelność VIE, a więc możliwość identyfikacji poznakowanych ryb obniża się już po 3 miesiącach (Goldsmith in. 2003, Soula i in. 2012).

Znakowanie VIE zazwyczaj stosuje się u młodocianych ryb, u których zachodzą istotne zmiany, np. w pigmentacji skóry, co może skutkować obniżającą się retencją znaczków w miarę rozwoju osobniczego. Znaczków VIE używano u młodocianego sandacza (*Sander lucioperca* (L.))

(początkowa masa ciała (m.c.) 3,0-25,0 g) wyhodowanego w systemach recyrkulacyjnych (RAS), a następnie wsiedlonego do stawów ziemnych i podchowyanego przez ponad 4 miesiące. Po ich odłowieniu odnotowano 100% retencję znaczków (Zakęś i in. 2015c). Podobnie wysoką retencję zaobserwowano u młodocianego szczupaka (*Esox lucius* L.) (m.c. 1,5-18,5 g), poznakowanego i podchowyanego w stawach ziemnych przez podobny okres (Szczepkowski i in. 2012).

Od kilku lat sandacz jest obiektem intensywnych prac badawczych, zmierzających do opracowania metody produkcji tego gatunku w pełnym cyklu produkcyjnym w RAS (Zakęś 2009, FAO 2012). W pracach hodowlanych bardzo pomocne jest znakowanie ryb, głównie selektów i tarlaków. W przypadku sandacza stosuje się pasywne zintegrowane transpondery (PIT; ang. *Passive Integrated Transponders*) (Zakęś 2007, 2009). Znaczki tego typu są dość drogie, dlatego za celowe uznano sprawdzenie efektów znakowania tarlaków sandacza implantami elastomerowymi. Analizowano wpływ koloru znaczków i czasu, który upłynął od poznakowania ryb na stopień ich identyfikowalności/jakość odczytu.

Materiał i metody

Znakowanie sandacza przeprowadzono 5 marca 2013 r. Poznakowano 43 tarlaki przetrzymywane w RAS, tj. ryby o masie ciała $0,91 \pm 0,19$ kg (średnia \pm SD) i długości ciała L_c $40,6 \pm 2,6$ cm (próba 0). Przed znakowaniem ryby usypiano w wodnym roztworze etomidatu, $1,5 \text{ ml l}^{-1}$ (Propiscin, IRS w Olsztynie). Znaczki VIE, w postaci ciekłego polimeru utrwalanego środkiem utwardzającym, były implantowane za pomocą ręcznego iniektora zaopatrzonego w 0,3 ml strzykawkę (Northwest Marine Technology, Shaw Island, WA, USA). Były one wprowadzane pod skórę wieczka skrzelowego (Zakęś i in. 2015a, b). Zastosowano 4 kolory fluorescencyjnych elastomerów: pomarańczowy (VIE-P), zielony



Fot. 1. Sandacz poznakowany czterema kolorami znaczków VIE (próba 0; identyfikacja przy świetle dziennym). Od prawej: kolor pomarańczowy (VIE-P), zielony (VIE-Z), niebieski (VIE-N) i seledynowy (VIE-S).

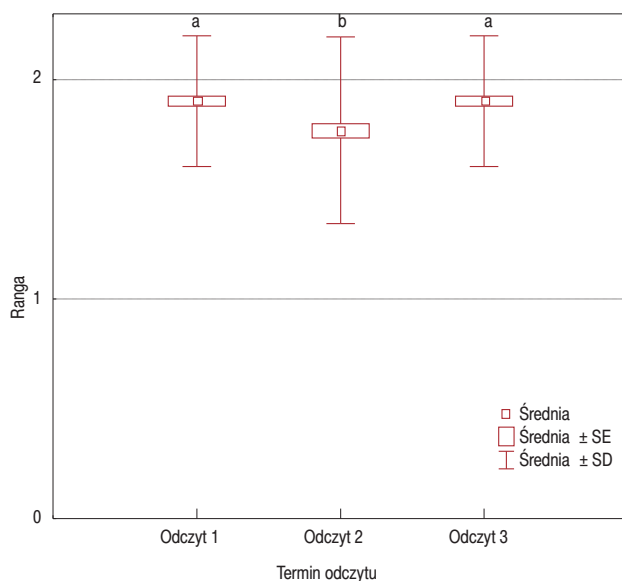
(VIE-Z), niebieski (VIE-N) i seledynowy (VIE-S). Każdy osobnik był znakowany 4 kolorami znaczków VIE (fot. 1). Kolejne kontrole widoczności/utrzymywania się VIE przeprowadzono 10 października 2013 r. (po 7 miesiącach od poznakowania; odczyt 1; m.c. $1,72 \pm 0,27$ kg; Lc $50,3 \pm 2,5$ cm); 8 października 2014 r. (po 19 miesiącach od poznakowania; odczyt 2; m.c. $2,34 \pm 0,42$ kg; Lc $54,7 \pm 2,6$ cm) i 18 lutego 2015 r. (po 24 miesiącach od poznakowania; odczyt 3; m.c. $2,40 \pm 0,44$ kg; Lc $54,7 \pm 2,7$ cm). W czasie tej procedury ryby były również usypiane w wodnym roztworze etomidatu, podobnie jak próba 0. Zastosowano 3-stopniową skalę rang widoczności znaczków VIE, tj. ranga 2 – znaczek dobrze widoczny przy dziennym świetle, ranga 1 – znaczek dobrze widoczny dopiero po zastosowaniu światła UV, ranga 0 – znaczek niewidoczny nawet po zastosowaniu latarki UV.

Dane poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., USA). W celu zbadania statystycznej istotności wpływu czasu odczytu i koloru znaczków na jego widoczność/możliwość identyfikacji posłużono się nieparametrycznym testem ANOVA Friedmana. Różnice przyjmowano jako istotne statystycznie dla $p \leq 0,05$. Z uwagi na fakt, że test ANOVA Friedmana nie opisuje różnic między poszczególnymi grupami, a jedynie wskazuje na statystyczną istotność różnic danego parametru, w dalszej analizie, mającej na celu zidentyfikowanie grup, które różniły się istotnie między sobą zastosowano test kolejności par Wilcoxon ($p \leq 0,05$).

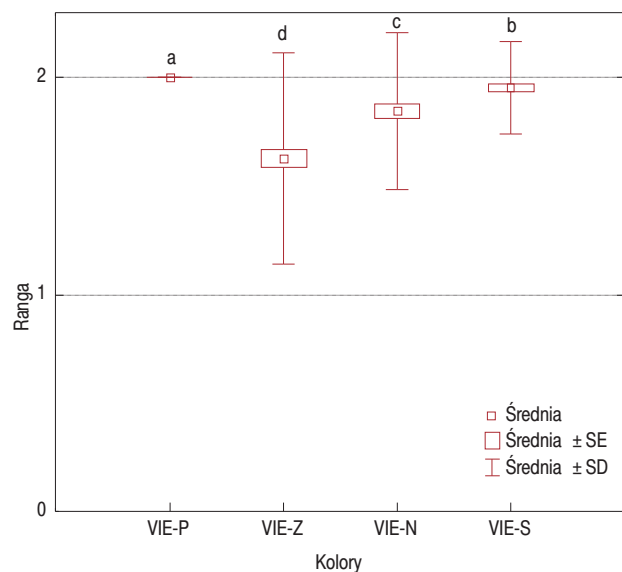
Wyniki i dyskusja

Stwierdzono istotny wpływ czasu odczytu znaczków VIE (odczyt 1, odczyt 2, odczyt 3) na ich identyfikowalność ($p < 0,05$; rys. 1). Przy czym istotne różnice odnotowano między odczytem 2 a odczytami 1 i 3. Nie stwierdzono różnic w stopniu identyfikowalności VIE między skrajnymi odczytami, tj. odczytem 1 (po 7 miesiącach) i odczytem 3

(po 24 miesiącach) ($p > 0,05$). Może to wskazywać, że o zaistniałych różnicach zdecydował tzw. czynnik ludzki. We wszystkich terminach odczytu znaczki zidentyfikowano u wszystkich poznakowanych ryb (retencja VIE 100%), ale w przypadku niektórych osobników sandacza konieczne było zastosowanie światła UV (ranga 1) (fot. 2). Jakość odczytu VIE (ranga) była istotnie determinowana kolorem elastomeru ($p < 0,05$; rys. 2). Istotność różnic w stopniu identyfikowalności elastomerów stwierdzono między wszystkimi analizowanymi kolorami VIE. Jedynie w przypadku elastomeru pomarańczowego (VIE-P) wszystkim poznakowanym rybom, we wszystkich terminach odczytu, przyznano rangę 2. Natomiast najniższą jakością



Rys. 1. Wpływ czasu odczytu znaczków VIE na ich identyfikowalność (objaśnienia w rozdziale Materiał i metody). Różne indeksy literowe wskazują różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$).



Rys. 2. Wpływ koloru znaczków VIE na ich identyfikowalność (objaśnienia w rozdziale Materiał i metody). Różne indeksy literowe wskazują istotne statystycznie różnice międzygrupowe ($p \leq 0,05$).



Fot. 2. Identyfikacja znaczków VIE u sandacza po 24 miesiącach od poznakowania (odczyt 3; identyfikacja przy użyciu światła UV). Od prawej: kolor pomarańczowy (VIE-P), zielony (VIE-Z), niebieski (VIE-N) i seledynowy (VIE-S).

odczytu, tj. największą liczbę osobników, którym przyznano rangę 1 (widoczność znacznka w świetle UV), stwierdzono w przypadku VIE koloru zielonego (VIE-Z).

W badaniach dotychczas przeprowadzonych na sandaczu (stadia młodociane), a dotyczących efektów znakowania VIE, wykazano wysoką retencję tego typu znaczków zarówno po 28 dniach po poznakowaniu, jak po 4 miesiącach, a wyniosła ona 100% (Zakęś i in. 2015a,c). Simon (2007) uzyskał również tak wysoką retencję VIE u węgorza europejskiego (*Anguilla anguilla* (L.)) po 183 dniach, a Goldsmith i in. (2003) u okonia (*Perca fluviatilis* L.) po 125 dniach od implantacji znaczków. W badaniach dotyczących ryb okoniokształtnych (Perciformes), u okonia i sandacza amerykańskiego (*Sander vitrus* (Mitch.)) stwierdzono jednak, że po kilku miesiącach retencja znaczków VIE spada < 90% (Goldsmith i in. 2003, Thompson i in. 2005). Brennan i in. (2005) zaobserwowali np., że po 1 roku identyfikacja znaczków VIE u większości osobników morskiego gatunku należącego do Perciformes (*Centropomus undecimalis* (Bloch)) była niemożliwa. Z drugiej strony Astorga i in. (2005) odnotowali, że u dorady (*Sparus aurata* L.) metoda znakowania VIE jest efektywna przez 18 miesięcy. Z powyższego wynika, że efekty znakowania ryb VIE są specyficzne gatunkowo. W niniejszych badaniach retencja znaczków VIE u sandacza przetrzymywanego w RAS wyniosła 100%. Wszystkie implanty elastomerowe, po 24 miesiącach (odczyt 3), niezależnie od koloru były identyfikowane w świetle dziennym (ranga 2) lub UV (ranga 1). U czawyczy (*Oncorhynchus tshawytscha* (Walb.)) retencja VIE po 3 latach wynosiła 91,3% (znacznki identyfikowano za pomocą latarki UV) (www.nmt.us). U łososia atlantyckiego (*Salmo salar* L.) po 17 miesiącach od poznakowania VIE identyfikowano u 92% ryb. Z kolei po 28 miesiącach retencja VIE spadła do poziomu 52,2% (odczyt w świetle dziennym). W sytuacji, gdy zastosowano latarkę UV wartość tego wskaźnika wzrosła do 87,8% (FitzGerald i in. 2004). Rów-

nież w naszych badaniach, szczególnie w przypadku znaczków o kolorze zielonym, ich identyfikacja była możliwa dopiero po zastosowaniu światła UV (ranga 1) (rys. 2). W grupie VIE-Z, po 24 miesiącach od poznakowania ryb, rangę 1 przypisano 12 z 43 osobników. Bez stosowania UV retencja tych znaczków, określona w świetle dziennym, wyniosłaby 72,1%. W tym samym czasie znaczkom niebieskim (VIE-N) rangę 1 przypisano w 3 przypadkach, a seledynowym (VIE-S) u dwóch osobników. W innych badaniach stwierdzono, że po 4 miesiącach od poznakowania młodocianego szczupaka identyfikacja znaczków VIE bez zastosowania UV byłaby bardzo trudna, a często nawet niemożliwa (Zakęś i in. 2015b, c). W przypadku tego gatunku wykazano, że najlepiej

utrzymują się na ciele i są najlepiej widoczne znacznki koloru pomarańczowego i czerwonego, a istotnie słabiej implanty VIE koloru zielonego i niebieskiego (Szczepkowski i in. 2012). Astorga i in. (2005) badane kolory VIE u dorady, pod kątem łatwości ich identyfikacji, ustawili w następujący szereg: czerwony, zielony, pomarańczowy i żółty. W naszych badaniach najłatwiej identyfikowany był kolor pomarańczowy, po 24 miesiącach u wszystkich osobników sandacza przypisano mu rangę 2, czyli był on dobrze widoczny w świetle dziennym (rys. 2). Należy też mieć na względzie, że z czasem różnice między kolorami mogą się zacierać. Dotyczy to kolorów pomarańczowego i czerwonego (Brennan i in. 2007, Szczepkowski, mat. niepubl.). Równoczesne stosowanie tych kolorów może sprawiać problem w ich identyfikacji.

Efektywność znakowania może być determinowana m.in. miejscem implantacji znaczków w ciele ryby (Brennan i in. 2007, Younk i in. 2010). U Perciformes do implantacji VIE często wybiera się pokrywy skrzelowe (Brennan i in. 2005, 2007, Zakęś i in. 2015a, c). Co istotne, operculum u sandacza nie jest mocno wypigmentowane (cecha bardzo ważna w sytuacji stosowania VIE). W niniejszych badaniach znakowano duże ryby (m.c. ok. 1 kg), które były już w pełni wypigmentowane. W rezultacie efekt maskowania widoczności znaczków VIE, wywołany pigmentacją ciała tej wielkości osobników, był z pewnością nieznaczny. Najprawdopodobniej głównie tym faktem można tłumaczyć wysoką retencję/identyfikowalność implantów VIE u tarlaków sandacza.

Reasumując, implanty elastomerowe (zawierające substancję fluorescencyjną) mogą być stosowane do efektywnego znakowania selektów i tarlaków sandacza. Najlepiej widoczne (w świetle dziennym) są znacznki koloru pomarańczowego. W przypadku użycia innych kolorów VIE (zielonych, niebieskich, seledynowych) skuteczność identyfikacji tego typu znaczków istotnie zwiększa stosowanie światła/latarki UV. Opi-

sana w tej publikacji metoda znakowania fluorescencyjnymi implantami elastomerowymi może być stosowana w pracach badawczych i hodowlanych prowadzonych na tym gatunku.

Podziękowania

Autorzy dziękują dr. Andrzejowi Kapuście za pomoc w statystycznym opracowaniu wyników. Badania finansowane z tematu statutowego Nr S-028 Instytutu Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie.

Literatura

- Astorga N., Afonso J.M., Zamorano M.J., Montero D., Oliva V., Fernández H., Izquierdo M.S. 2005 – Evaluation of visible implant elastomer tags for tagging juvenile gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): effects on growth, mortality, handling time and tag loss – *Aquac. Res.* 36: 733-738.
- Berg O., Berg M. 1990 – Effects of Carlin tagging on the mortality and growth of anadromous Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.) – *Aquac. Fish. Manage.* 21: 221-227.
- Bonneau J.L., Thurow R.F., Scarnecchia D.L. 1995 – Capture, marking, and enumeration of juvenile bull trout and cutthroat trout in small, low-conductivity streams – *N. Am. J. Fish. Manage.* 15: 563-568.
- Brennan N.P., Leber K.M., Blackburn B.R. 2007 – Use of coded-wire and visible implant elastomer tags for marine stock enhancement with juvenile red snapper *Lutjanus campechanus* – *Fish. Res.* 83: 90-97.
- Brennan N.P., Leber K.M., Blankenship H.L., Ransier J.M., DeBruler R.Jr. 2005 – An evaluation of coded wire and elastomer tag performance in juvenile common snook under field and laboratory conditions – *N. Am. J. Fish. Manage.* 25: 437-445.
- Buckley R.M., West J.E., Doty D.C. 1994 – Internal micro-tag systems for marking juvenile reef fishes – *Bull. Mar. Sci.* 55(2): 850-859.
- FAO 2012 – Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sander lucioperca*. Cultured Aquatic Species Information Programme – W: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rzym, Włochy (tekst Z. Zakęś), http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander_lucioperca/en (dostęp 3 marca 2016 r.).
- FitzGerald J.L., Sheehan T.F., Kocik J.F. 2004 – Visibility of visual implant elastomer tags in Atlantic salmon reared for two years in marine net-pens – *N. Am. J. Fish. Manage.* 24: 222-227.
- Goldsmith R.J., Closs G.P., Steen H. 2003 – Evaluation of visible implant elastomer for individual marking of small perch and common bully – *J. Fish Biol.* 63: 631-636.
- Simon J. 2007 – Evaluation of marking European silver eels with visible implant elastomer tags and alcian blue – *J. Fish Biol.* 70: 303-309.
- Simon J., Dörner H. 2011 – Growth, mortality and tag retention of small *Anguilla anguilla* marked with visible implant elastomer tags and coded wire tags under laboratory conditions – *J. Appl. Ichthyol.* 27: 94-99.
- Skalski J.R., Buchanan R.A., Griswold J. 2009 – Review of marking methods and release-recapture designs for estimating the survival of very small fish: examples from the assessment of salmonid fry survival – *Rev. Fish. Sci.* 17: 391-401.
- Soula M., Navarro A., Hildebrandt S., Zamorano M.J., Roo J., Hernández-Cruz C.M., Afonso J.M. 2012 – Evaluation of VIE (Visible Implant Elastomer) and PIT (Passive Integrated Transponder) physical tagging systems for the identification of red porgy fingerlings (*Pagrus pagrus*) – *Aquac. Int.* 20: 571-583.
- Szczepkowski M., Zakęś Z., Kapusta A., Szczepkowska B., Hopko M., Jarmołowicz S., Kowalska A., Kozłowski M., Partyka K., Piotrowska I., Wunderlich K. 2012 – Growth and survival in earthen ponds of different sizes of juvenile pike reared in recirculating aquaculture systems – *Arch. Pol. Fish.* 20: 267-274.
- Thompson J.M., Hirethota P.S., Eggold B.T. 2005 – A comparison of elastomer marks and fin clips as marking techniques for walleye – *N. Am. J. Fish. Manage.* 25: 308-315. www.nmt.us (dostęp 3 marca 2016 r.)
- Younk J.A., Herwig B.B., Pittman B.J. 2010 – Short- and long-term evaluation of passive integrated transponder and visible implant elastomer tag performance in muskellunge – *N. Am. J. Fish. Manage.* 30: 281-288.
- Zakęś Z. 2007 – Out-of-season spawning of cultured pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – *Aquac. Res.* 38: 1419-1427.
- Zakęś Z. 2009 – Sandacz. Chów i hodowla. Poradnik hodowcy – Wyd. IRS, Olsztyn, 203 s.
- Zakęś Z., Kapusta A., Hopko M., Szczepkowski M., Kowalska A. 2015a – Growth, survival and tag retention in juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in laboratory conditions – *Aquac. Res.* 46: 1276-1280.
- Zakęś Z., Szczepkowski M., Kapusta A., Rożyński M., Stawecki K., Pyka J., Szczepkowska B., Wunderlich K., Kozłowski M., Kowalska A., Hopko M. 2015b – Z akwakultury do natury. Opracowanie alternatywnych metod zarządzania rybołówstwem drapieżnych ryb jeziorowych – Wyd. IRS, Olsztyn, 224 s.
- Zakęś Z., Szczepkowski M., Szczepkowska B., Kowalska A., Kapusta A., Jarmołowicz S., Piotrowska I., Kozłowski M., Partyka K., Wunderlich K., Hopko M. 2015c – Effects of stocking earthen ponds with pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) fingerlings reared in recirculating aquaculture system – effects of fish size and the presence of predators – *Bulg. J. Agric. Sci.* 21: 5-11.

Przyjęto po recenzji 18.03.2016 r.

TAGGING PIKEPERCH (*SANDER LUCIOPERCA* (L.)) SPAWNERS WITH VISIBLE IMPLANT ELASTOMER (VIE) TAGS

Zdzisław Zakęś, Maciej Rożyński, Marek Hopko, Mirosław Szczepkowski, Krzysztof Wunderlich

Abstract. The aim of the study was to determine the impact visible implant elastomer (VIE) tag color and time following implantation had on tag readability. Pikeperch spawners (body weight > 1 kg) were tagged with four fluorescent colored VIE tags: orange (VIE-P), green (VIE-Z), blue (VIE-N), and celadon (VIE-S). VIE visibility and durability were monitored seven months (reading 1), 19 months (reading 2), and 24 months (reading 3) after tagging. A three-stage scale was used to rank tag readability: rank 2 - tag readily visible in daylight; rank 1 – tag readily visible under UV light; rank 0 – tag not visible even when using a UV flashlight. All of the VIE tags were visible at all of the readings in all of the fish that had been tagged. The period of time elapsed between tagging and reading had a significant impact on the rank of tag readability, and a significant difference was noted between the readings 2 and readings 1 and 3. No significant differences were noted between the first (after 7 months) and third (after 24 months) readings. Significant differences in VIE tag readability were confirmed among all the VIE tag colors analyzed. Only with the orange tags (VIE-P) were all the tags visible in daylight (rank 2) in all tagged fish at all readings. The worst quality was noted in tag group VIE-Z. Tagging with fluorescent VIE can be used in research and husbandry work conducted with selects and spawners of this species.

Słowa kluczowe: visible implant elastomer (VIE) tags, VIE tag color, VIE tag retention, pikeperch, tagging